This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

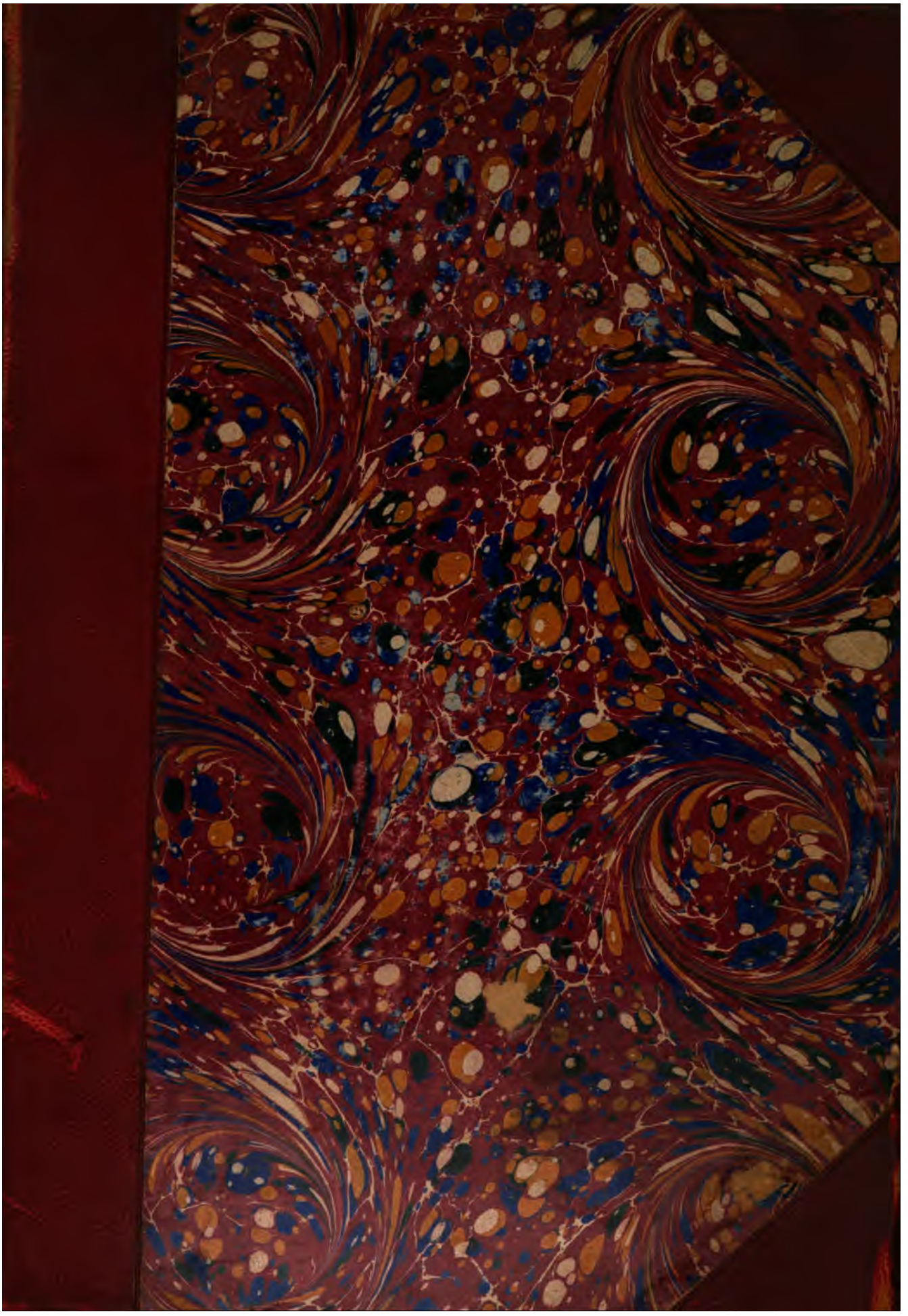
+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

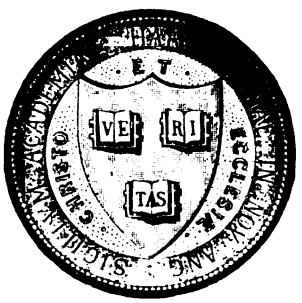
+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.



Chem 7858.95



Harvard College Library

FROM THE BEQUEST OF

GEORGE HAYWARD, M.D.,

OF BOSTON,

(Class of 1809).

6 July, 1896.

SCIENCE CENTER LIBRARY

Untersuchungen

aus der

Praxis der Gärungsindustrie.

Beiträge zur Lebensgeschichte der Mikroorganismen.

Von

Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen,**

Mitglied der Königl. Dänischen Akademie der Wissenschaften,
Vorstand des physiologischen Laboratoriums Carlsberg, Kopenhagen.

Es gibt keinen größeren Reiz für den Forscher, als neue Entdeckungen zu machen; doppelt groß wird aber seine Freude, wenn er sieht, daß sie eine direkte Anwendung im praktischen Leben finden.

Pasteur.

I. Heft.

Dritte, vermehrte und neubearbeitete Auflage, mit 19 Abbildungen.

München und Leipzig.
Druck und Verlag von R. Oldenbourg.
1895.

~~V. 5543~~
Chem 7858.95

HARVARD COLLEGE
JUL 6 1896
LIBRARY.
Hayward fund.
I, II (in 1.)

Nachdruck und Übersetzungsrecht vorbehalten!

Vorwort zur ersten Auflage.

Experimentelle Studien über die Mikroorganismen führen leicht zu praktischen Aufgaben, auf der einen Seite im Dienste der Medizin, auf der anderen in dem der Industrie. Die theoretischen und praktischen Probleme auf diesem Gebiete gehen Hand in Hand miteinander und sind oft nicht zu trennen. Dies ist mit meinen Arbeiten auch der Fall gewesen; schon die ersten von 1878 zeugen davon, und wenn wir die Reihe betrachten, welche ich seit 1881 unter dem gemeinsamen Titel »Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der Alkoholgärungspilze« herausgegeben habe, so tritt dies noch deutlicher hervor. Einige haben hauptsächlich ein theoretisches Interesse, andere dagegen greifen direkt in die Praxis ein. Dadurch bekommen sie ein doppeltes Gepräge, und je nachdem die eine oder die andere der erwähnten Seiten hervortritt, erhalten sie Bedeutung für die zwei Klassen von Lesern, für welche sie geschrieben sind: für die wissenschaftlichen Forscher, welche theoretische Aufschlüsse suchen, und für die Praktiker, welche ihren Betrieb nach rationellen Grundsätzen einzurichten und einen erhöhten materiellen Ertrag zu erlangen wünschen.

Diese Erwägungen haben mich veranlafst, dafs ich von nun an beabsichtige, meine Studien in zwei Reihen zu veröffentlichen, so dafs die theoretischen Untersuchungen wie früher unter der eben genannten Aufschrift publiziert werden, während die, welche eine direkte praktische Anwendung haben, eine neue Reihe mit dem oben angegebenen Titel bilden sollen.

Schon vor mehreren Jahren wurde ich von dem Stifter des Carlsberger Fonds und dessen Laboratoriums, dem verstorbenen J. C. Jacobsen, mehrmals dazu aufgefordert, solche Schriften für Praktiker zu veröffentlichen und nicht nur in meiner Muttersprache für

skandinavische Leser, sondern zugleich in der deutschen Sprache, damit sie in denjenigen Ländern, wo die Gärungsindustrie von altersher sich besonders entfaltet hat, Verbreitung finden möchten. Ich versprach es auch; neue Untersuchungen aber, die sich unaufhörlich hervordrängten, haben mich bis jetzt daran verhindert. Erst nach dem Tode Jacobsen's bin ich nun im stande gewesen, mein Versprechen zu erfüllen.[1])

Indem ich also künftig meine gärungsphysiologischen Arbeiten in den zwei genannten Reihen herausgeben werde, mufs ich aufs neue an das erinnern, was ich schon im Anfange dieses Vorwortes bemerkt habe, dafs die theoretischen und praktischen Studien sich in der That nicht streng trennen lassen. Falls der Praktiker die Untersuchungen, die am nächsten für ihn ausgearbeitet sind, vollständig zu verstehen wünscht, mufs er zugleich viel von dem Übrigen studieren, und umgekehrt wird auch der Physiologe und der Mykologe in der nun angefangenen Reihe Aufschlüsse finden können, die dazu dienen, meine mehr theoretischen Studien zu vervollständigen.

Bei der Ausarbeitung wurde ich von den Fragen, welche nach und nach von mehreren Praktikern an mich gestellt wurden, mehrfach geleitet; indem ich sie genau berücksichtigt habe, hoffe ich, meinem Ziele näher getreten zu sein und einen Briefwechsel, welcher in den letzten Jahren meine Zeit sehr in Anspruch genommen hat, überflüssig gemacht zu haben.

Ich sende diese Arbeiten mit dem Wunsche aus, dafs sie der grofsen, wichtigen Industrie, in deren Dienst sie ausgeführt sind, nützlich sein mögen und dadurch zeigen, dafs von dänischer Seite in ernster Weise an der Fortschrittarbeit teilgenommen wird.

Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, Februar 1888.

Emil Chr. Hansen.

Vorwort zur zweiten Auflage.

Der Kernpunkt der vorliegenden Untersuchungen ist die Reform, deren Einführung in der Gärungsindustrie mir vor sieben Jahren gelungen ist. Sie hat sich mit grofser Schnelligkeit den Weg nach

[1]) Die dänische Ausgabe der vorliegenden Arbeiten ist nebst einem kurzen französischen Résumé in »Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet« (Hagerups Buchhandlung, Kopenhagen 1888) erschienen. Die vollständige deutsche Ausgabe liegt hier vor.

allen bierbrauenden Ländern gebahnt. Als ich im Jahre 1888 die erste Auflage herausgab, war der Widerstand an mehreren Stellen noch grofs. In dieser Beziehung ist aber nach und nach eine erfreuliche Änderung eingetreten.

Aus dem in diesen Tagen von den Herren Dr. Wahl und Dr. Henius in Chicago veröffentlichten Berichte geht hervor, dafs die Angriffe, welche in Nord-Amerika gegen mein System der Hefereinzucht gerichtet wurden, nun auch da im Begriffe sind, zu verschwinden, und dafs dieses mit Erfolg in den gröfsten der sich dort befindenden Untergärungsbrauereien eingeführt worden ist.

Trotz des Fortganges, welchen meine Lehre also gehabt hat, sind die Angriffe doch immer fortgesetzt worden; jeder Schritt vorwärts mufste erkämpft werden. Mein bedeutendster Gegner im Augenblicke ist Prof. Duclaux, Membre de l'Institut de France und Directeur des Pasteur-Instituts. Er hat jedoch auf dem Kongresse, welcher diesen Sommer zu Lille abgehalten wurde, selbst hervorgehoben, dafs die Hefefrage in betreff der Untergärung durch meine Arbeiten gelöst worden ist.[1]) Für die Obergärung räumt er dies dagegen nicht ein, sondern kämpft für die Einführung der alten Pasteur'schen Methoden auf diesem Gebiete. In der jüngsten Zeit hat mein System indessen eben in den Obergärungs-Brauereien mehr und mehr Eingang gefunden. Eine besondere Bedeutung hat in dieser Beziehung die von Herrn Kokosinski, Direktor des zymotechnischen Laboratoriums in Lille, veröffentlichte Mitteilung, deren zufolge mein System jetzt mit Erfolg in 12 Obergärungs-Brauereien in Frankreich selbst eingeführt worden ist (La Gazette du Brasseur 1890, p. 474).

Jetzt, wo ich eben im Begriffe stehe, diese Vorrede nach der Druckerei zu senden, finde ich im »Moniteur scientifique« (Juillet-Août 1890) eine Abhandlung »La levûre de bière« von Dr. H. Bungener und darin die nachstehende Äufserung: »In Frankreich ist Hansens System von L. Marx, A. Flühler und Kokosinski mit Eifer aufgenommen worden. In einigen Brauereien ist es zwar erst in der jüngsten Zeit eingeführt, in anderen wird es bald geschehen. Wir sind davon überzeugt, dafs die Aufnahme desselben in allen gröfseren Brauereien Frankreichs, wie sonst überall, nur eine Zeitfrage sein wird. Es ist nämlich festgestellt, dafs es einen regelmäfsigen Betrieb

[1]) Dieses wurde übrigens schon zu der Zeit, als die erste Auflage des vorliegenden Heftes erschien, von solchen hervorragenden zymotechnischen Forschern wie Aubry, Delbrück, Belohoubek, Jörgensen, Lintner und Thausing, sowie auch von Pasteur selbst, dem grofsen Lehrer des Herrn Duclaux, anerkannt und öffentlich ausgesprochen. Später haben mehrere andere berühmte Zymotechniker sich diesen angeschlossen.

und einen guten Erfolg in einer der wichtigsten Phasen der Fabrikation sichert, wo bis jetzt der Zufall und die damit folgende Unsicherheit herrschten.«

Es dürfte folglich Aussicht dazu sein, dafs meine Neuerungen in nicht ferner Zeit auch in Frankreich eine allgemeine Anwendung, und zwar nicht nur in den Untergärungs-, sondern auch in den Obergärungsbrauereien, finden werden.

Die vorliegende zweite Auflage ist mit 22 Seiten vergröfsert worden; 4 neue Abbildungen sind ebenfalls hinzugekommen, nämlich Fig. 8, 9, 13 und 14. Die Zusätze finden sich namentlich Seite 3, 4, 8, 23, 42, 43, 45—49 und im 2. Kapitel »Beobachtungen über Brauerei-Hefearten«; einen neuen Abschnitt bilden die Untersuchungen über die Variation Seite 71—79. Ich habe darin eine übersichtliche Darstellung meiner experimentellen Studien über diese Frage gegeben, die ich hauptsächlich während der letzten Jahre vorgenommen habe; durch die dadurch erreichten positiven Resultate sind neue Bahnen für das Studium der Saccharomyceten eröffnet worden, welche auch praktische Früchte tragen werden. An mehreren anderen Punkten war ich übrigens im stande, Aufklärungen einzuflechten; endlich ist die neue Auflage auch mit einem ausführlicheren Inhalts-Verzeichnis versehen worden als die erste Auflage.

Wie aus einigen der obenstehenden Bemerkungen hervorgeht, befinde ich mich noch in der Zeit des Streites. Die nachstehenden Arbeiten haben dadurch teilweise ihr Gepräge bekommen. Eine wesentliche Triebfeder für mich war hier, wie sonst immer, der Wunsch, Beiträge zu der Literatur zu geben, deren Ziel ist, dem grofsen Auslande zu zeigen, dafs unsere kleine Nation, ungeachtet aller politischen Niederlagen, doch eine selbständige wissenschaftliche Forschung zu entwickeln im stande ist.

Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, August 1890.

Emil Chr. Hansen.

Vorwort zur dritten Auflage.

Dem im Jahre 1892 herausgegebenen 2. Hefte dieser Untersuchungen entsprechend, habe ich dem ursprünglichen Titel folgenden Untertitel beigefügt: »Beiträge zur Lebensgeschichte der Mikroorganismen«, um damit teils das Gebiet, auf welchem meine Untersuch-

ungen sich bewegen, anzugeben, teils auch zu bezeichnen, dafs dieselben sich nicht nur an die an den Gärungsgewerben beteiligten Praktiker, Techniker und Chemiker, sondern zugleich an die Biologen wenden.

In der gegenwärtigen neuen Ausgabe habe ich an mehreren Stellen Umarbeitungen vorgenommen, um den Inhalt mehr in Übereinstimmung mit dem in der Zwischenzeit erschienenen 2. Hefte zu bringen. Einige neue Untersuchungen sind hinzugefügt und etliche der alten, weniger glücklichen Abbildungen durch bessere ersetzt worden, so wie die Zahl der Figuren um fünf vermehrt worden ist.

Ich ergreife die Gelegenheit, um der hochgeehrten Verlagsbuchhandlung meinen verbindlichsten Dank zu wiederholen, für das gütige Entgegenkommen, mit dem meinen Wünschen Rechnung getragen worden ist.

Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, April 1895.

Emil Chr. Hansen.

Seite

S. 14. Über die Vorteile der Reform, S. 14—15. Mifsverständnisse und Fehlgriffe, S. 15—18. Gründe, warum von der Anwendung von Mischhefen abzuraten ist, S. 18. Erst als die Hefefrage gelöst worden war, konnte die Frage über die Abschaffung der Kühlschiffe aufgestellt werden, S. 19—20.

5. Die fabrikmäfsige Darstellung reingezüchteter Hefen. Die Vorarbeiten 20

Die Probe zur Analyse für wilde Hefen wird am besten am Ende der Hauptgärung und die Probe zur Darstellung der gewünschten Reinkultur der Brauereihefe am besten im Anfange der Hauptgärung genommen, S. 21. Über die Mischsaaten, S. 21—22. Zeitweilige Varietäten, S. 23. Lebensdauer der Hefezellen in Bierwürze, Rohrzuckerlösung und in Filtrirpapier, S. 23—25. Die bisherigen Erfahrungen laufen darauf hinaus, dafs eine Rohrzuckerlösung, und zwar bei Zimmertemperatur, für Hefen ein gutes Aufbewahrungsmittel bildet, S. 25.

Mein altes Verfahren 25

Die Sterilisierung der Würze in den Glaskolben und Metallgefäfsen, S. 26—30. Von besonderer Wichtigkeit ist es, die Würze gut durchzulüften, S. 30—31. Die Manipulationen mit der Reinhefe im Gärkeller, S. 32—33.

Der Reinzuchtapparat 33

Beschreibung der einzelnen Teile und Anweisung für den Gebrauch des von Kühle und mir in Vereinigung konstruierten Apparates, S. 33—49. Die Konstruktionen von Henningsen, Elion, Jensen, Marx u. a. S. 49. Veltens »générateur«, S. 49. Der neue Apparat von Bergh und Jörgensen. S. 50—53. Änderungen des Apparates für Obergärung von Kokosinski, Jensen und Wilson, S. 53. Die Preise des Reinzuchtapparates, S. 53—54.

Über die Filter 55

Chamberlands Thonröhren, S. 55. Das Baumwollefilter von Schröder und Dusch, S. 56. Die Filter des Reinzuchtapparates, S. 56—57. Die Leistungsfähigkeit der genannten Filter, S. 58—59.

Die Überführung der Hefe in den Reinzuchtapparat und deren Versendung 59

Wie die Hefe in den Reinzuchtapparat übergeführt wird, S. 60. Die öffentlichen Laboratorien, welche meine Methoden in ihr Programm aufgenommen haben, S. 60—61. Die Studienkurse in dem Carlsberger Laboratorium, S. 61. Methoden zur Versendung reingezüchteter Hefen, S. 61—65.

II. Studien über die Hefearten.

1. Merkmale der Saccharomyces-Arten 65

Entwickelung und Keimung der Sporen; die Hautbildung; Form der Zellen unter bestimmten Kulturbedingungen; Verhalten zu den Zuckerarten u. s. w. S. 65—66. Unterschied in dem Inhalte der Sporen bei den Kultur-Hefearten auf der einen und den wilden Hefearten auf der anderen Seite, S. 66. Die in der jüngsten Zeit wieder aufgenommenen Untersuchungen über Stammformen der Saccharomyceten, S. 69.

Seite

2. Ober- und Unterhefe 69
Pasteurs und Reess' Ansichten, S. 69. Meine seit 1884 angestellten Versuche, S. 70—71.

3. Untersuchungen über Hefearten, welche in der Praxis geprüft worden sind 72
Unter den Namen Sacch. cerevisiae, Sacch. ellipsoideus u. s. w. sind nicht einzelne bestimmte Spezies, sondern Gruppen von Spezies und Varietäten inbegriffen, S. 72. Die Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und 2, S. 72—77.

4. Über die Variation 78
Umbildungen flüchtiger Natur, S. 78—83. Unter den verschiedensten Züchtungsbedingungen dauernde und vererbliche Umbildungen, S. 83—86.

5. Hauptergebnis 86

III. Über die praktische Untersuchung des Bieres in den Lagerfässern rücksichtlich seiner Haltbarkeit.

Allgemeines, S. 87—89. Das Verfahren und die Versuche, S. 89—92.

I.

Die Reinzucht planmässig ausgewählter Hefen im Dienste der Industrie.

1. Worin der neue Fortschritt besteht.

Es wird mehreren meiner Leser bekannt sein, dafs es mir i. J. 1883 glückte, reinkultivierte, planmäfsig ausgewählte Hefenarten in den Brauereibetrieb einzuführen. Meine ersten Versuche wurden in der berühmten Brauerei Alt-Carlsberg bei Kopenhagen ausgeführt. Als ich meine Arbeit in dieser Richtung anfing, war die Hefefrage überall in den Brauereien ein vollständiges Rätsel, sie war der schwächste Punkt im Betriebe. Stellten sich Schwierigkeiten ein, wechselte man Hefe mit einer andern Brauerei, häufig wurde auch Hefe, von mehreren Brauereien herstammend, zusammengemischt. Bisweilen erhielt man in dieser Weise zwar ein gutes Resultat, bisweilen aber auch ein schlechtes, oft ein noch schlechteres als das, welches die Veranlassung dazu gab, dafs man neue Hefe suchte. In allen Fällen war es ein Arbeiten aufs Geratewohl ganz ins Blaue hinein; man wufste, kurz gesagt, gar nicht, was man in die Würze hineinbrachte. Die Analyse, wie sie damals möglich war, ging nicht weiter als höchstens zu konstatieren, ob die Stellhefe mit Bakterien und Schimmelpilzen verunreinigt war oder nicht; aber sehr oft zeigte es sich eben, dafs eine Hefe, die man einer solchen Untersuchung zufolge als gut annehmen mufste, dennoch ein schlechtes Resultat gab. Hierdurch wurde ich natürlich zu der Meinung geführt, dafs das Geheimnis in den Hefezellen selbst liegen müfste, und dafs diese scheinbar gleichartigen Zellen doch möglicherweise verschiedenen Arten angehören könnten. Von diesem Ausgangspunkt entwickelten sich nach und nach meine Untersuchungen über die Saccharomyceten. Die praktischen Früchte davon waren zunächst eine neue analytische Methode und die bestimmte Darlegung, dafs einige der allgemeinsten und

schlimmsten Krankheiten im Biere, wie unangenehme Geschmacksänderungen und Hefetrübung, nicht von Bakterien, sondern von gewissen Hefearten herrühren.

Erst als dieses durch exakte Experimente sowohl im Laboratorium wie im Grofsbetriebe festgestellt war, wurde es einleuchtend, dafs es nicht genügend war, die Hefe von Bakterien und Schimmelpilzen zu reinigen, sondern dafs die Sache von einem neuen Gesichtspunkte zu behandeln wäre. Und indem ich ferner zeigte, dafs auch die guten Brauereihefen verschiedene Arten bilden, welche Biere verschiedener Beschaffenheit geben können, trat wie von selbst die klare Forderung hervor: die Stellhefe dürfe nur aus einer einzigen Art bestehen, nämlich aus der für die betreffende Brauerei günstigsten.

Wie diese Reform von mir ausgeführt wurde und weiter geführt werden könnte, darüber gab ich eine kurze, vorläufige Mitteilung in der Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1884. Eine ausführliche Darstellung davon wurde aber zum ersten Male im Jahre 1888 in der ersten deutschen Ausgabe dieser Untersuchungen gegeben. Gewissermafsen mag es gut sein, dafs sie so spät erschien; ich hatte mittlerweile eine gröfsere Erfahrung gewonnen und war dadurch in den Stand gesetzt, die bedeutungsvollsten Beiträge des genannten Zeitraumes zur Beleuchtung meiner Arbeit, sowohl für als gegen sie, an einer Stelle zusammenfassen zu können. Es würde hier zu weitschweifig sein, diese Abhandlungen zu citieren; sie wurden in den Zeitschriften für Gärungsgewerbe veröffentlicht, besonders in denjenigen für Bierfabrikation, alle die leitenden Zymotechniker haben nach und nach Beiträge dazu gegeben. Ein Verzeichnis der wichtigsten dieser Verfasser findet sich in der ersten Ausgabe dieses Buches.

Dafs meine Arbeiten einen starken Widerstand begegnen werden, war nicht anders zu erwarten. Dieser trat besonders zu drei verschiedenen Zeitpunkten hervor. Der erste und schwierigste Kampf, den ich zu bestehen hatte, war mit dem Stifter des Laboratoriums, dem verstorbenen Kapitän J. C. Jacobsen. Er betrachtete nämlich meine Bestrebungen als verfehlt und versuchte eine Zeit lang, sie zu verhindern. Sobald er aber erkannt hatte, dafs meine Entdeckungen eine bedeutungsvolle Errungenschaft werden konnten, entschied er sich sofort dazu, sie selbst zu empfehlen, obzwar nicht immer in einer Weise, die ich billigen konnte (1883—1884). Die Versuche, welche ich, um Jacobsen zu überzeugen, damals angestellt habe, bekamen eine grundlegende Bedeutung für die ganze Entwickelung der Sache, sie werden deshalb im folgenden ausführlicher besprochen.

Kurz danach begann der Streit mit Prof. Dr. Delbrück und seinem Kreise in Berlin. Meine geehrten Gegner gingen davon aus,

dafs eine botanische Behandlung der Hefefrage nicht zum Ziele führen konnte, und dafs meine Methode für die praktischen Verhältnisse in den Brauereien nicht pafste. Sie begnügten sich indessen nicht mit einem Wortstreite, sondern machten selbst Versuche. Durch diese und durch die neuen Untersuchungen, welche allmählich von mir und meinen Mitarbeitern veröffentlicht wurden, sind meine Gegner nach und nach zu der entgegengesetzten Anschauung gelangt und haben auch diese ganz offen ausgesprochen. Im Jahre 1889 nahm die Berliner Station meine Methoden mit völliger Anerkennung in ihr Programm auf und überreichte mir ihr Diplom als Ehrenmitglied. Unter den Ehrenbezeigungen, welche meinen Arbeiten erteilt wurden, hat eben diese für mich eine besondere Bedeutung als ein Zeugnis, dafs der Streit mit meinen geehrten Berliner Kollegen ohne Persönlichkeit geführt wurde.

Der dritte gröfsere Angriff fand von französischer Seite statt; an der Spitze desselben stehen der durch Pasteurs „Études sur la bière" bekannte Brauer Velten in Marseille und Prof. Duclaux, Membre de l'Institut de France und Direktor von Pasteurs Institut in Paris. Einige andere Schüler der französischen Schule haben sich diesen angeschlossen. Velten begann 1886 seine Angriffe; im Jahre 1889 trat Duclaux hinzu. (Es freut mich, hervorheben zu können, dafs Pasteur selbst an diesen Angriffen keinen Teil genommen, dagegen meinen Arbeiten eine öffentliche Anerkennung gezollt hat, indem er am Schlusse des Jahres 1886 dazu Veranlassung gab, dafs „La société d'encouragement pour l'industrie nationale" diesen ihre Goldmedaille zuerkannte.) Der Streit ist noch nicht zu Ende gebracht. Herr Velten behauptet fortwährend, dafs ich mich vollständig geirrt habe, indem ich in den Brauereibetrieb eine Stellhefe eingeführt habe, die nur aus einer einzigen Heferasse besteht. Im folgenden wird man seine Behauptungen widerlegt finden. Prof. Duclaux, dessen Sympathien im Anfange in dieselbe Richtung, wie diejenigen Veltens gingen, hat später in einigen Richtungen von diesem Abstand genommen und auf dem Brauerkongresse in Lille 1890 selbst betont, dafs die Hefefrage in Betreff der Untergärung durch meine Arbeiten gelöst worden ist. Rücksichtlich der Obergärung will er noch nichts mit meinem Systeme zu thun haben und kämpft für die Einführung der alten Pasteurschen Methoden. Die Zukunft wird ihm darin nicht Recht geben.

Über diese Frage hat L. Aubry, Direktor der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München folgende Erklärung gegeben (La Gazette du Brasseur, 1890, S. 79): „Obwohl wir uns hauptsächlich mit der Darstellung der Reinkultur von Unterhefen beschäftigen, geschieht es nicht selten, dafs wir Anfragen über reine Oberhefe empfingen, und

wir haben schon Reinkulturen von Oberhefe in die Praxis mit gutem Resultate eingeführt. Die Methode, welche wir sowohl hinsichtlich der Oberhefe als der Unterhefe benutzten, ist immer die Hansensche gewesen; wir benutzen nie die Pasteursche Methode. Auf dem jetzigen Standpunkte der Wissenschaft will keiner, welcher mit der Darstellung reiner Hefe sich beschäftigt, irgend eine andere Methode, als die von Hansen benutzen. Die Feindseligkeit, welche gegenüber Hansens Bestrebungen hervortritt, ist sehr zu beklagen. Wir erkennen alle, und Hansen selbst geht eben hier an der Spitze, was Pasteur in Betreff der Hefefrage geleistet hat, dieses verhindert uns aber nicht, einzusehen, dafs diese Frage durch Hansens Arbeiten in eine neue Bahn eingeführt ist, welche in unseren Augen einen grofsen Fortschritt bezeichnet, den wir mit Freude aufnehmen."

In der ersten Periode mufste ich natürlicherweise ganz allein den Streit auskämpfen, später sind Schüler und Kollegen hinzugetreten, und es wurde mir deshalb in höherem Grade möglich, meine Kraft darauf anzuwenden, durch neue und eingehende Untersuchungen die Frage von verschiedenen Seiten zu beleuchten. Dies ist auch der einzige Weg, auf welchem ein Forscher, welcher einer kleinen Nation angehört, in die Länge dem grofsen mächtigen Auslande gegenüber sich zu behaupten im Stande sein wird. Auch in der Wissenschaft macht die Politik sich leider immer noch geltend. Die meisten Verfasser haben Partei für meine Bestrebungen genommen, und nach und nach sind die grofsen Angriffe verstummt. Kleine Angriffe und Versuche, die Bedeutung meiner Arbeiten zu verkleinern, treten indessen noch recht häufig hervor und oft mit derselben Beweisführung, welche schon früher einem andern Widersacher gegenüber vollständig widerlegt wurde. Ich habe daraus gelernt, dafs dieselbe Wahrheit immer und immer wiederholt werden mufs, wenn man will, dafs sie am Ende durchdringen soll. Meine Antworten und Berichtigungen habe ich jedoch in den meisten Fällen vorsätzlich nicht direkt an die betreffenden Verfasser, welche dazu Anlafs gaben, richten wollen; denn persönliche Streitigkeiten waren mir immer unlieb.

2. Meine Methoden der Reinkultur.

Die Methoden, welche sich zur Darstellung der Reinkultur fanden, als ich mich im Jahre 1880 besonders mit Experimenten darüber beschäftigte, gaben bei weitem nicht eine genügende Sicherheit. Lister hatte wohl im Jahre 1878 mitgeteilt, auf welche Weise er vermittels einer Verdünnungsmethode die Reinkultur einer Milchsäurebakterie erhalten hatte. Durch Zählen bestimmte er, wie viele Bakterien sich

in einem Tropfen der betreffenden Flüssigkeit fanden und nahm darauf eine derartige Verdünnung mit sterilisiertem Wasser vor, sodafs jeder Tropfen der Mischung der Berechnung zufolge durchschnittlich weniger als eine Bakterie enthalten sollte. Nachdem in einer Reihe von Kolben, welche mit Nährflüssigkeit gefüllt waren, jede mit einem solchen Tropfen beschickt war, verblieben einige steril, und er nahm dann an, dafs die übrigen eine Reinkultur enthielten. Das Zählen wurde in gewöhnlichen mikroskopischen Präparaten ausgeführt. Später wurde dasselbe Verfahren von Nägeli und Fitz angewendet. Eine wirkliche Sicherheit gibt es nicht, es zeigt sich nämlich, dafs mehrere der infizirten Kolben trotz der Berechnung, jeder mehr als einen Keim empfangen hat, und da nur die Einzel-Kultur die absolute Garantie darbietet, so mufste folglich meine Aufgabe diejenige werden dieses Prinzip durchzuführen. Im Betreff der Hefezellen gelang mir dieses gegen den Schlufs des Jahres 1881. (Die erste diesbezügliche Mitteilung veröffentlichte ich im Februar 1882 in den Compte rendu du laboratoire de Carlsberg. Copenhague. 1 vol. 4 livr. S. 212. Eine ausführliche Beschreibung meiner Methoden gab ich in derselben Zeitschrift 2 vol. 2 livr.)

Das Zählen unternahm ich auf eine andere Weise als Lister, indem ich teils das Hämatimeter, teils ein besonderes dazu quadriertes Deckglas benutzte. (Fig. 1.) Ein Tröpfchen mit den darin anwesenden Hefezellen wurde innerhalb der Grenzen des grossen Quadrates angebracht, die kleinen Quadrate haben nur die Bedeutung, Anhalts-

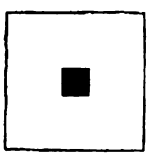


Fig. 1.

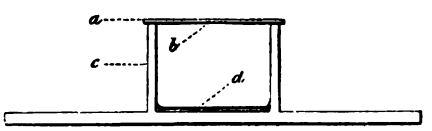


Fig. 2.

punkte für das Zählen abzugeben. Das Deckglas wurde, mit dem Tröpfchen nach unten gekehrt, auf den Ring der feuchten Kammer fest gemacht. (Fig. 2.) Finden wir nun, dafs das Tröpfchen z. B. 20 Zellen enthält und führen wir es in 40 ccm. sterilisirtem Wasser ein, so werden wir, falls wir mit Durchschnittsproben arbeiten, nur in jedem zweiten Kubikcentimeter der Mischung eine Zelle haben; auch mit der von mir angewendeten genauen Zählungs-Methode trifft dies in der Wirklichkeit doch nicht immer zu. Die verdünnte Hefe führte ich in Kolben mit sterilisierter Bierwürze hinein und arbeitete mit so starken Verdünnungen, dafs nur ein kleiner Teil der Kolben infiziert wurde. Das Neue in meiner Methode lag vornehmlich darin, dafs ich ein Kennzeichen entdeckte, durch welches ich die

Kolben, welche jeder nur eine Zelle, von denen, deren jeder mehrere bekommen hatte, unterscheiden konnte, indem ich nämlich die Beobachtung machte, dafs von den Zellen, nachdem sie durch Schütteln in der Nährlösung gut verteilt waren, sich jede für sich auf den Boden legte und hier separate Hefeflecken bildete. Nur diejenigen Kulturen, welche jede einen einzigen Hefefleck enthielten, wurden als Reinkulturen angenommen. Selbstverständlich kann man auch mittels des quadrierten Deckglases eine direkte Aussaat von einer einzigen Zelle vornehmen. Dadurch war zum ersten Male eine exakte Verdünnungsmethode geschaffen. Mit Hilfe dieser stellte ich die Reinkulturen von den 6 Saccharomycesarten, welche ich i. J. 1883 in die Literatur eingeführt habe, sowie von mehreren Brauereihefen dar. Es war auch diese Methode, die ich in Anwendung brachte in meinen Untersuchungen über die bei der Sporenbildung wirksamen Faktoren, über die Temperaturkurven für den Entwickelungsgang der Sporen bei den erwähnten 6 Arten und über Krankheiten im Biere durch Saccharomyceten hervorgerufen. Eine kurze Mitteilung über diese Arbeiten wurde im Jahre 1882 (a. a. O. S. 206 und S. 216) veröffentlicht, und hiermit war, kurz gesagt, die vollständige Grundlage meiner Hefestudien gegeben. Alle meine damaligen Experimente wurden nur mit Flüssigkeiten ausgeführt, denn zu jener Zeit war der in technischer Beziehung so bedeutungsvolle Fortschritt (Plattenkultur mittels Nährgelatine), welchen wir Koch verdanken, noch nicht gethan.

Diese historischen Erläuterungen habe ich namentlich mitgeteilt als Antwort auf die Versuche, welche gemacht wurden, um zu zeigen, dafs meine Studien ihren Ursprung von Kochs Plattenkulturverfahren haben sollten; wir haben aber gesehen, dafs dies, wie die Entwickelung ging, unmöglich war.

Die Grundlage der Reinkulturen auf festen Nährboden wurde schon i. J. 1872 von Schröter gegeben und, wie oben angedeutet, von Koch wesentlich verbessert. Zuerst stellte dieser Forscher seine Reinkulturen in ziemlich unvollkommener Weise dar durch Impfstriche in Nährgelatine (1881). Noch 1883 wurde diese Methode in seinem Laboratorium allgemein angewendet, so auch von Hueppe in seinen Unters. über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen (1884). Im Jahre 1883 veröffentlichte Koch seine verbesserte Plattenkulturmethode. Nach dieser wird die Reinkultur in der Weise hergestellt, dafs eine Portion von den betreffenden Mikroorganismen in flüssende, keimfreie Nährgelatine übergeführt wird. Nachdem die Zellen in dieser Mischung durch Schütteln so weit als möglich gleichmäfsig verteilt

worden sind, wird das Ganze auf eine horizontale, ebenfalls keimfreie Glasplatte ausgegossen. Diese wird endlich mit einer feuchten Glasglocke zugedeckt und solchergestalt bei passender Temperatur aufbewahrt. Es wird nun angenommen, dafs jeder separat gebildete Vegetationsfleck eine Reinkultur enthält. Dies ist aber lange nicht immer der Fall; denn in Gelatine ist es schwieriger als in Flüssigkeiten die Zellen von einander getrennt zu bekommen. Um eine absolute Reinkultur mit Sicherheit zu erhalten, mufs man, auch wenn man das Gelatineverfahren anwendet, von einer einzigen Zelle ausgehen. Daher arbeitete ich meine Methode mittels der feuchten Kammer aus (1883).

Die Nährgelatine mit den darin eingemischten Zellen wurde auf die Unterseite des Deckglases in der feuchten Kammer (Fig. 2) angebracht. Darauf wurden diejenigen Zellen genau markiert [1]), deren Stellung eine solche war, dafs die von ihnen entstammenden Kolonien ihre volle Gröfse erreichen konnten, ohne in Berührung mit den anderen Kolonien zu kommen. Für die darauf folgende Aussaat in Nährflüssigkeit benutzte ich nur diejenigen Kolonien, von welchen ich also durch die direkte mikroskopische Untersuchung festgestellt hatte, dafs jede sich nur aus einer einzigen Zelle entwickelt hatte.

Später haben andere Forscher die Richtigkeit meiner Resultate bestätigt. So fand Miquel, dafs in 100 Kolonien, nach Kochs Plattenverfahren dargestellt, 134 verschiedene Arten von Bakterien versteckt waren. In Holms Versuchen mit Hefekulturen und Würzegelatine waren im Durchschnitte 100 Kolonien aus 108 Zellen, im ungünstigsten Falle aus 135 Zellen gebildet.[2])

Wie man sehen wird, stimmt Kochs Plattenkultur im Wesentlichen mit den vorausgehenden Verdünnungsmethoden von Lister und mir überein; das Verfahren ist dasselbe, nur wendet man in dem einen Falle Gelatine und in dem anderen Flüssigkeiten an. Die verschiedenen Reinzuchtmethoden, welche nach und nach ausgearbeitet wurden, sind überhaupt nur als Modifikationen aufzufassen, die eine von der anderen; Sprünge finden sich nicht in dieser Entwickelung. Die Ursache, weil die Verdünnungsmethoden mit Flüssigkeiten jetzt selten gebraucht werden, ist diese, dafs die Arbeit in der Weise eine kostspieligere und schwierigere wird, als wenn man Gelatine anwendet.

[1]) Zu diesem Zwecke kann der Objektmarkierer von Klönne & Müller, Berlin, empfohlen werden.

[2]) Just. Chr. Holm, Sur les méthodes de culture pure et, spécialement, sur la, culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs de cette méthode. (Compte rendu du laborat. de Carlsberg. 2 vol. 1 livr. 1891.) In dieser Abhandlung findet sich eine geschichtliche Darstellung der Frage sowie genaue Literaturangaben. Siehe auch Jörgensen, die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 3. Auflage. Berlin 1892.

Mit Hefezellen macht es keine besonderen Schwierigkeiten, das Prinzip der Reinkultur aus einer Zelle in Anwendung zu bringen, und man räumt mir gewöhnlich auch ein, dafs es richtig ist, meiner strengen Methode bei rein wissenschaftlichen Untersuchungen zu folgen; dagegen sind noch einige Zymotechniker geneigt, es leichter zu nehmen, wenn es heifst, eine Reinhefe für die Brauereien darzustellen. Man bedenkt dabei aber nicht, welcher Gefahr man unter solchen Umständen ausgesetzt ist, indem man mit der guten Bierhefe zugleich eine für den Betrieb gefährliche Krankheitshefe einführen kann. Meine Mahnung ist hier wie immer: Das Beste ist für die Praxis nicht zu gut!

Die Differenzen zwischen Kochs und meinen Methoden sind jetzt zwar von den meisten Sachverständigen erkannt worden; meine Gegner haben deshalb in der letzten Zeit ihren Blick auf Brefeld geworfen. Er ist ja auch selbst mit Prioritätsansprüchen auf die Gelatinemethode aufgetreten, welche wir sonst, und mit Recht, Koch zuschreiben. Brefelds Methoden sind mit Rücksicht auf morphologische Untersuchungen, besonders von Schimmelpilzen ausgearbeitet, und in dieser Beziehung vorzüglich. Zur Herstellung von Massenkulturen von Bakterien und Hefezellen eignen sie sich aber nicht. (Siehe übrigens die oben erwähnte Abhandlung von Holm und die darin citierten Schriften von Brefeld.)

Welche Reinzuchtmethode wir auch anwenden mögen, so ist und bleibt dieselbe weiter nichts als ein technisches Hilfsmittel, das nur seine Bedeutung bekommt, wenn es im Dienste eines wissenschaftlichen Gedankens tritt. In einigen Zeitschriften hat man in der letzten Zeit die Verhältnisse um und umgekehrt, indem man meine Einzel-Kultur als das Wesentliche in der Reform, welche meine Hefestudien in der Gärungsindustrie hervorgebracht haben, bezeichnete; dies ist aber ein Irrtum. Das Wesentliche darin ist das neue Prinzip: Das Auswählen einer bestimmten Art oder Rasse. Insofern sind auch die allgemein benutzten Bezeichnungen »Reinhefe« und »Reinzuchthefe« weniger glücklich gewählte.

3. Die Beiträge meiner Vorgänger.

Gleichwie jede Arbeit sich auf diejenigen der Vorgänger stützt, so auch die meinige. In dem vorgehenden Abschnitte haben wir den Standpunkt kennen gelernt, auf welchem die Forschung sich befand, als ich meine Studien der Technik der Reinzuchtmethoden anfing; ehe wir weiter gehen, wird es nützlich sein, auch einen Blick auf die meinen Arbeiten vorausgehenden Untersuchungen über die Hefen und ihre Anwendung in der Industrie zu werfen.

Der Grund für die Wissenschaft der Gärungsorganismen wurde vor etwa sechzig Jahren gelegt und zwar namentlich auf die Entdeckungen Cagniard Latours, Schwanns, Turpins und Kützings. Durch die Untersuchungen der zwei erstgenannten Forscher wurde der Beweis geliefert, dafs die Alkoholhefe aus lebenden Zellen besteht, und dafs diese es sind, welche die Alkoholgärung hervorrufen. Spallanzani war i. J. 1765 gegen die Lehre von der Selbsterzeugung (generatio aequivoca) aufgetreten, infolge welcher lebende Wesen sich aus der toten Natur ohne Eier, Samen oder Keime entwickeln sollten. Die Versuche Schwanns und seiner Nachfolger zeigten, dafs verschiedene, leicht in Gärung und Verwesung übergehende Substanzen sich unverändert erhalten können, wenn man dieselben kocht und dafür Sorge trägt, dafs die Luft, mit welcher sie später in Berührung kommen, von ihren Keimen befreit ist. Hierdurch war die Sterilisationstechnik begründet, sowohl für die Praxis als auch für die Wissenschaft. Im J. 1839 gab Schwann zugleich die Grundlage für die später so wichtige Lehre von den Antiseptica, indem er nämlich zeigte, dafs die Hefenzellen sterben, wenn gewisse chemische Stoffe auf sie einwirken. Als jetzt auch die Essigsäurebakterien entdeckt wurden, nämlich von Kützing, sprach Turpin infolgedessen und seiner eigenen, zwar sehr unvollkommenen Untersuchungen, den Lehrsatz aus: »Keine Spaltung von Zucker, keine Gärung ohne die physiologische Thätigkeit einer Vegetation.«

Diesen fruchtbaren Ideen schliefst sich Pasteur an und es waren hauptsächlich seine bahnbrechenden Untersuchungen, welche der neuen Lehre eine allgemeine Anerkennung verschafften. Auf dieser Stelle wollen wir nur bei seinen »Études sur la bière« verweilen, die i. J. 1876 erschienen. Er hob darin die fatalen Änderungen (Krankheiten) hervor, denen das Bier ausgesetzt werden kann, wenn es von Bakterien angegriffen wird, und da nun diese durch ihre Form von den Hefenzellen leicht zu unterscheiden sind, empfahl er eine fleifsige Anwendung der Mikroskopie in den Brauereien; aufserdem gab er Anweisungen dazu, die Gärung so zu führen, dafs Organismen von aufsen nicht eindringen könnten. Hierdurch war die Grundlage wichtiger Verbesserungen in dem Brauwesen gegeben. Die Ursache, weshalb sie damals nicht durchgeführt werden konnten, war die, dafs die Hefenfrage noch auf ihre Lösung wartete und auf dieser Lösung beruhte zuletzt doch das Ganze. Da es den Untersuchungen Pasteurs zufolge Bakterien sind, welche die Krankheiten des Bieres hervorrufen, fing er an, Versuche mit der Reinigung der Hefe anzustellen. Von den verschiedenen Mitteln, welche er zu diesem Zwecke brauchte, empfahlen er und seine Mitarbeiter, Duclaux und Velten, besonders eine Behandlung mit einer Saccharose-Lösung, welche mit ein wenig Weinsäure versetzt war. Von

einer wirklichen Reinkultur ist also hier nicht die Rede, sondern nur von einer Unterdrückung der in der Hefe sich befindenden Bakterien. Die Versuche, welche darüber in dem Carlsberger Laboratorium ausgeführt wurden, haben aber dargethan, dafs dieses Verfahren zur Reinigung der Brauereihefe unbrauchbar ist, denn die Krankeitshefen werden dadurch in ihrer Entwickelung eben begünstigt. Man erreicht damit das Gegenteil von dem, was man beabsichtigt. (Siehe meine Abhandlung: »Was ist die reine Hefe Pasteurs?« im zweiten Hefte.) Dafs Pasteur ein solches Verfahren empfehlen konnte, erklärt sich nur dadurch, dafs man damals gar keine Klarheit darüber hatte, was gute Brauereihefe und was Krankheitshefe sei. Unter diesen Umständen ist es selbstverständlich, dafs sein Verfahren keinen Eingang in die Praxis finden konnte.

Schon von älteren zymotechnischen Schriftstellern vor Pasteur wurde die Meinung mehrmals ausgesprochen, dafs es verschiedene Hefesorten gibt, die verschiedene Gärungen hervorrufen und dem Biere einen verschiedenen Charakter geben können. Ähnliche Ansichten finden wir auch bei älteren Gärungsphysiologen, z. B. bei Bail 1857. Die gewöhnlichste Auffassung war diese, dafs die Brauereihefe schnell ihren Charakter wechseln könne, auch nur durch Gebrauch in verschiedenen Brauereien; ja einige behaupteten sogar, dafs sie sich in Mucorhefe umwandeln und eine Reihe von Schimmelpilzarten durchlaufen könnte. Neben dieser Ansicht trat eine andere hervor, namentlich durch Reefs, 1870, nämlich, dafs die Hefenarten einen sehr beschränkten Entwickelungskreis haben, und indem man dann ohne weiteres nach der Form der Zellen allein Arten aufstellte, nannte man die wurstförmigen Sacch. Pastorianus, die kleinen ovalen Sacch. ellipsoideus und die gröfseren ovalen Sacch. cerevisiae u. s. w. Dafs aber auch diese Anschauungsweise ganz unrichtig ist, und dafs das von Reefs ausgeführte System keinen reellen Boden hat, wissen wir jetzt. Es wurde, kurz gesagt, auf alles mögliche geraten, nichts aber wurde bewiesen, übrig blieb also immer noch, das Richtige ausfindig zu machen.

Wesentlich weiter kam Pasteur auf diesem Gebiete nicht. Hierzu hat nicht nur der Umstand beigetragen, dafs der damalige Stand der Wissenschaft es wohl kaum erlaubte, sondern dafs Pasteur an eine botanische Behandlung des Problems nicht dachte. In seinem Werke wird nirgends ein Versuch gemacht, zwischen Saccharomyceten und Nicht-Saccharomyceten zu unterscheiden, alle Hefezellen mit der gewöhnlichen Knospenbildung und einigermafsen ausgeprägter Fähigkeit, eine Alkoholgärung hervorzurufen, werden gleichgestellt und bald als Saccharomyces, bald als levûres, ferments alcooliques etc. bezeichnet;

eine exakte Reinzuchtmethode hatte er nicht und auf scharfe Unterscheidungsmerkmale war er nicht bedacht. Unter solchen Umständen konnte folglich weder von einer Analyse, noch von einem planmäfsigen Auswählen von Spezies die Rede sein.

Alle Möglichkeiten werden im Kapitel V und wo er sonst von der Hefe spricht, diskutiert, ein bestimmter wissenschaftlicher Standpunkt wurde aber nicht erreicht. Als Beispiel seien hier nur seine Mitteilungen über eine Umwandlung der Bier-Oberhefe in Unterhefe und umgekehrt erwähnt. Während aus seiner Beobachtung S. 189 hervorzugehen scheint, dafs eine solche nicht stattfindet, kommt er später, S. 213 zu der Ansicht, dafs dies doch der Fall sein dürfte, und S. 333, Anmerkung, gibt er den Brauern sogar eine Anweisung, wie sie sich verhalten müssen, falls sie sich versichern wollen, dafs ihre Unterhefe nicht in Oberhefe umgewandelt werden soll, und hier ist, was hervorgehoben werden muss, von einer vorläufigen Umbildung nicht die Rede. Dafs eine derartige Umbildung, wie die von Pasteur angenommene, in Wirklichkeit nicht stattfindet, habe ich in einer anderen Abhandlung dargethan.

Die Kritik, welche in obenstehender Darlegung liegen möchte, gilt nicht dem mit Recht berühmten Werke, sondern den Schülern des Meisters, welche noch die unklaren Standpunkte festhalten und mit Vorliebe die dunkeln Stellen aufsuchen, um darin zu lesen, was sich nicht findet, und der Zeit zufolge, in welcher es publiziert wurde, sich auch schwerlich finden könnte.

Durch die Untersuchungen, welche Nägeli in den Jahren 1877—79 veröffentlichte, traten Diskussionen über die Ausartung und Umbildung der Brauereihefe in den Vordergrund. Es wurde viel von dem »Degenerieren der Hefe« gesprochen, und diesem legte man einen grofsen Teil der in den Brauereien auftretenden Schwierigkeiten bei; auf eine experimentelle Begründung liefs man sich aber nicht ein. Die Aufmerksamkeit wurde hierdurch mehr und mehr von der Möglichkeit abgelenkt, dafs diese Fatalitäten vielleicht auch von fremden Arten herrühren könnten, welche sich in den Betrieb eingeschlichen hatten. Auf diesem Standpunkte stand die Forschung als ich meine Studien auf diesem Gebiete anfing.

In der vorhergehenden Darstellung der Beiträge meiner Vorgänger habe ich nur das Wesentlichste hervorgezogen; mehrere der hierher gehörenden Fragen sind in dem zweiten Hefte, teils in der schon citierten Abhandlung: »Was ist die reine Hefe Pasteurs?«, teils in der historischen Darstellung: »Wie die Lehre von Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten sich nach und nach entwickelt hat«, ausführlicher behandelt worden. An diesen Stellen habe ich auch eine

genaue Zusammenstellung der Literatur gegeben. Die Leser, welche sich dafür interessieren, werden im Schlusse der ersterwähnten Abhandlung die Hauptpunkte angegeben finden, in welchen meine Lehre sich von derjenigen Pasteurs unterscheidet.

4. Die gewonnenen praktischen Resultate.

Als ich mich i. J. 1883 an den verstorbenen Kapitän J. C. Jacobsen, den Besitzer von »Alt-Carlsberg« wandte, um die Erlaubnis zu erhalten, meine Versuche im grofsen in der Brauerei selbst anzustellen, hegte er, wie oben gesagt, kein Vertrauen zu meinen Plänen. Einer der wesentlichsten Einwände, die er machte, war der, dafs eine Reinkultur einer Brauerei-Unterhefe nicht eine passende Nachgärung geben könnte, sondern dafs die wilden Arten, welche ich ausgeschlossen hatte, wahrscheinlicherweise eben hierzu notwendig wären. Es finden sich auch in den Werken von Reefs und Pasteur Andeutungen, welche in der Weise verstanden werden können.

Kurz bevor ich mich an ihn wandte, hatten indessen einige meiner Untersuchungen ein schlagendes Resultat in der Praxis gegeben, welches in hohem Grade dafür sprechen mufste, dafs meine Lehre über die Saccharomyceten überhaupt richtig war. In einer Abhandlung über Krankheiten im Biere hatte ich die Krankheit, welche in der Tuborg-Brauerei bei Kopenhagen während zweier Jahre so grofse Nachteile anrichtete, nämlich die Hefetrübung, klargelegt, und als die Fabrik durch Anwendung der gegebenen Aufschlüsse schnell wieder in Ordnung gebracht wurde, lag hier also ein handgreiflicher Beweis für die praktische Bedeutung meiner Entdeckungen vor. Ungefähr zu derselben Zeit zeigte sich eine Schwierigkeit in Jacobsens Brauerei, indem das Bier einen unangenehmen bittern Geschmack und üblen Geruch anzunehmen anfing. Nach der damals herrschenden Auffassung suchte er ganz natürlich die Ursache hierzu in einer Bakterieninfektion, und als eine solche nicht zu finden war, glaubte er, dafs die Würze und besonders der Hopfen einen Fehler hätte. Auch hier war aber nichts zu entdecken. In einer Abhandlung (1882) hatte ich gelegentlich eine kleine Untersuchung über einen Saccharomyceten mitgeteilt, welcher ein ähnliches Bier gab, wie dasjenige, über welches Klage in Alt-Carlsberg geführt wurde. Ich sprach da sogleich die Ansicht aus, dafs die wilden Hefenarten ebenso grofse Störungen in der Gärungsindustrie hervorrufen können, wie die Bakterien. Dafs meiner Lehre damals nicht viel Aufmerksamkeit geschenkt wurde, ist natürlich, denn sie war noch nicht hinreichend begründet. Jm Jahre 1883 hatte ich indessen einen Schritt weiter gethan, und das Glück, welches ich in der Tuborg-Brauerei gehabt hatte, bewirkte auch, dafs mir die

erwünschte Erlaubnis gegeben wurde. Die Versuche wurden also im grofsen Mafsstabe im Betriebe selbst gemacht, und die Beweise nach und nach in einer unwiderlegbaren Weise geführt.

Aus der unreinen Hefe schied ich vier Saccharomyces-Arten aus und beim Experimentieren teils mit jeder für sich, teils mit Mischungen derselben ergab es sich, dafs nur eine einzige normales Bier mit gutem Geschmack und gutem Geruch gab. Es ist diese Art, welche nun in der Brauereiwelt unter dem Namen: Carlsberger Unterhefe Nr. 1 allgemein bekannt ist. Dafs diese Art für sich allein im Stande ist, die ganze Gärung auf eine passende Weise durchzuführen, sowohl die Nachgärung als die Hauptgärung, wurde durch die Darstellung von gröfseren und kleineren Biermengen mittels absoluter Reinkulturen in sterilisierter Würze gezeigt. Unter den anderen fand sich die Art, mit welcher ich meine Versuche i. J. 1882 angestellt hatte, und von welcher ich in einer meiner Abhandlungen von 1883 eine eingehende Beschreibung gegeben habe; ich habe sie da mit dem vorläufigen Namen Sacch. Pastorianus I bezeichnet. Nur diese war es, welche die Krankheit hervorrief. Ferner zeigte es sich, dafs das Bier, welches mittels der ausgewählten Brauerei-Hefeart für sich allein dargestellt wurde, vorzüglich war, während ein Zusatz von Sacch. Pastorianus I bewirkte, dafs es den gefürchteten bittern Geschmack und unangenehmen Geruch bekam. Dies Resultat war von grofser Bedeutung, denn Jacobsen mufste nun erkennen, dafs eine Reform wirklich vorhanden war, und er öffnete seine ganze grofse Brauerei dafür. Im Anfang ging er sogar schneller vorwärts, als ich selbst es eigentlich wünschte. Hiermit war der Kampf in Alt-Carlsberg für diese Sache beendet. Dies geschah im Jahre 1884. Ich habe die Beobachtungen in diesen zwei genannten Brauereien hier hervorgehoben, teils weil sie zeigen, wie die Entwickelung vor sich ging, und teils, weil sie in lebendiger Weise für die Reform sprechen werden, welcher ich eine so grofse Verbreitung wie möglich wünsche.

Die Proben sowohl in der Brauerei selbst als in dem Laboratorium zeigten also, dafs die Befürchtungen von Jacobsen in betreff der Nachgärung ohne Grund waren. In den letzten Jahren ist es eigentlich nur rücksichtlich der englischen Obergärung, dafs diese Einwendung angeführt worden ist. Versuche, welche im Betriebe angestellt wurden, haben jedoch auch in diesem Falle das Grundlose darin erwiesen. Unter Einflufs solcher gegen die Reinzucht in ihrer einfachen Form in England aufgehobener Einwände war auch Prof. Dr. Delbrück in Berlin zu der Auffassung gelangt, dafs die Untergärungsbrauereien in Deutschland, welche eine kräftige Nachgärung haben und welche eben einen hervorragenden Ruf wegen der Haltbarkeit ihrer Biere besitzen,

nicht die ganze Gärung mit einer einzigen Hefeart durchführen können, sondern dafs dazu eine oder mehrere besondere Nachgärungshefen erforderlich wären. Auf seine Veranlassung unternahmen Dr. P. Lindner und Dr. Schönfeld eine Studienreise, um Klarheit in der Frage zu bekommen. »Danach«, sagt er, »mufs ich konstatieren, dafs diese Frage zu verneinen ist.« Seine zwei Mitarbeiter kamen zu Brauereien, wo ihnen vierwöchige, achtwöchige, vierteljährige, ja halbjährige Biere zur Verfügung standen, und es wurden aus allen diesen verschiedenen Stadien Proben genommen, um zu beobachten: »wo ist der Punkt, wo der neue Pilz zur Entwickelung kommt?« Es wurde aber konstatiert, dafs in der That Brauereien vorhanden sind, welche trotz der langen Nachgärung eine reine Nachgärung haben, wo die Hauptgärungshefe die ganze Vergärung weiterbesorgt. Delbrück schliefst mit Folgendem: »Die Annahme, die ich machte, dafs wir eventuell auch für die Nachgärungshefe Reinzucht zu liefern hätten, ist also für untergäriges Bier wenigstens hinfällig.« Später teilt er mit, dafs Einhefegärung sich auch in den deutschen Obergärungsbrauereien findet. (Wochenschrift f. Brauerei 1894 S. 759 und 1895 S. 2).

Es war namentlich der Autorität Jacobsens zu danken, dafs meine praktischen Versuche in sehr kurzer Zeit, sowohl in meinem Vaterlande als im Auslande bekannt wurden; meist jedoch wurden sie, und zwar auch von intelligenten Brauern mit Mifstrauen betrachtet. Dieser Widerstand würde die Förderung der Sache mehrere Jahre hindurch verhindert haben können, wenn nicht Aubry gleich von Anfang an mit Kraft und Tüchtigkeit dafür gearbeitet hätte. Ihm gebührt die Ehre, diese Reform in Deutschland eingeführt zu haben. In Böhmen wurde von Bêlohoubek, in Norwegen von Hejberg der Anfang gemacht. Hier in Dänemark wurden meine Bestrebungen von A. Jörgensen und Grönlund unterstützt; von dem Jörgensenschen Laboratorium wurde besonders eine bedeutende Thätigkeit entfaltet. In Frankreich hat Louis Marx zuerst die Sache in die Hand genommen; später sind Kokosinski, Petit, Monal u. A. beigetreten. In England wurde besonders von Hyde, Wilson und Miller, in Amerika von Wahl und Henius, in Australien von Peschka dafür gearbeitet. Während der letzten Jahre habe ich überhaupt unter den ausländischen Chemikern und Botanikern, welche bei mir studierten, mehrere tüchtige Mitarbeiter bekommen.

Aus dem vorhergehenden wird es wohl einleuchtend sein, dafs mein System bedeutende praktische Vorteile mit sich bringt. Wenn wir genauer anführen, worin diese bestehen, ergeben sich folgende:

1. Man sichert sich ein bestimmtes Resultat, einen rationellen Betrieb, wo früher alles mehr oder weniger aufs Geratewohl basiert war.

2. Man schützt sich gegen Krankheiten im Biere, die grofse Geldverluste verursachen können.
3. Man erhält eine Hefe, die im Handel mit Stellhefe einen gröfseren Preis hat als die gewöhnliche unreine.
4. Man trägt endlich dazu bei, dafs die Industrie sich hebt, was in jedem Falle für den intelligenten Praktiker immer von grofsem Interesse sein mufs.

Ein Vorzug bei diesen Verbesserungen ist noch dieser, dafs sie keine besonderen Ausgaben zur Folge haben, und dafs sie deshalb auch kleineren Fabriken zugänglich sind. Glücklicherweise unterscheiden sie sich dadurch von dem, was z. B. stattfindet, wenn eine Brauerei in ihrem Betriebe Eismaschinen zu benutzen wünscht. Auch in einer anderen Beziehung findet sich hier ein Unterschied, diesen hat man indes übersehen, wenn man, wie es geschehen ist, die durch meine Arbeiten hervorgerufene Reform mit den durch die Einführung der Eismaschinen erreichten Vorteilen gleichgestellt hat. Im letzteren Falle geschieht nämlich nichts anders, als was stattfindet, wenn diese Maschinen in andere Gebiete der Industrie eingeführt werden; die Arbeitsweise in der Brauerei bleibt ganz dieselbe wie früher; unsere Einsicht erhält dadurch keine Erweiterung. Durch die Aufnahme der Reinzucht wurden dagegen sowohl neue Gesichtspunkte als auch eine durchgreifende Verbesserung eingeführt. Von einem hygienischen Standpunkte gesehen, gibt die reine Hefe gleichfalls eine gröfsere Sicherheit als eine gewöhnliche, unreine Stellhefe.

Dafs meine Arbeit an vielen Orten Mifsverständnissen und Fehlgriffen begegnen würde, war leicht vorauszusehen. Dies geschah auch. Eine besondere Aufmerksamkeit habe ich deshalb nach dieser Seite gerichtet und habe genau jeden Fall, welchen ich erfuhr, aufgezeichnet. In dem Vortrage, welchen ich am 12. Juni 1887 bei der Generalversammlung des österreichischen Brauerbundes in Graz hielt, habe ich hierüber ausführlich berichtet. Was ich hier mitteile, ist ein Auszug davon mit einigen Zusätzen und wenigen Änderungen. Es sind also die Mifsverständnisse und Fehlgriffe, über welche wir sprechen werden, um wo möglich am Ende damit fertig zu werden.

Ein Mifsverständnis ist es, anzunehmen, dafs die reine Hefe alles machen kann. Hier mufs im Gegenteil hervorgehoben werden, dafs die Forderungen an die Bereitung des Malzes, der Würze u. s. w. dieselben wie früher bleiben. Versündigt man sich in diesen Richtungen, wird das Bier, wenn auch reine Hefe angewendet wird, doch mangelhaft werden. Umgekehrt ist die von einigen Zymotechnikern selbst in der neuesten Zeit mehr oder weniger offen ausgesprochene Lehre unrichtig, dafs es nämlich in betreff der Gärung hauptsächlich nur

auf die Zusammensetzung der Würze ankommt, so dafs gutes Malz immer schöne Gärungen gebe, ferner die Entwickelung der gewünschten Brauerei-Hefeart begünstige und die Krankheitskeime unterdrücke, während schlechtes Malz dagegen gerade die Entwickelung der letztgenannten fördere. Das Hauptresultat hieraus würde dann dasjenige sein, dafs man, wenn man nur dafür sorgt, eine gute Würze zu haben, sich um die Beschaffenheit der Hefe nicht viel zu bekümmern brauche. Dies alles ist indessen, wie so vieles andere, welches selbst von angesehenen Verfassern über die Bierfabrikation geschrieben worden ist, nur subjektive Mutmafsung, welcher jede Begründung fehlt. Auch dürfen wir nicht vergessen, dafs uns noch deutliche chemische Aufschlüsse darüber fehlen, was wir unter einem guten oder weniger guten Malze, unter einer guten oder weniger guten Würze verstehen sollen.

Eine Reinkultur, welche einmal in einer Brauerei eingeführt ist, kann sich nicht ins Unendliche hinlänglich rein erhalten. Die Würze von den offenen Kühlschiffen bringt besonders in den Sommer- und Herbstmonaten Infektion von Bakterien und wilden Hefen mit sich, dasselbe gilt auch von der mehr oder weniger unreinen Luft, die namentlich in Gärkellern, wo man ohne Luftreinigung und ohne Eismaschinen arbeitet, vorhanden ist, auch die Geräte und die Arbeiter selbst führen leicht Infektionen herbei. Wenn auch unter den gleichen Bedingungen eine reine Hefe länger im Betriebe ohne Gefahr benutzt werden kann als eine unreine, kommt dennoch immer ein Zeitpunkt, wo es notwendig ist, eine neue Reinkultur einzuführen. Wann dies geschehen mufs, kann nur durch eine Analyse festgestellt werden. Die lokalen Verhältnisse, sowie die Jahreszeiten spielen in dieser Beziehung eine grofse Rolle; eine für alle Brauereien und für alle Fälle gültige Regel gibt es nicht; auch mufs daran erinnert werden, dafs die verschiedenen Bier-Unterhefearten nicht dieselbe Widerstandsfähigkeit gegenüber den ungeladenen Konkurrenten besitzen.

Meine Gegner haben diesen Punkt aufgegriffen und dessen Bedeutung übertrieben. Man hat z. B. gesagt, dafs die reine Hefe, nachdem sie mit der Würze von den Kühlschiffen angestellt worden ist, sogleich in ihren früheren unreinen Zustand gebracht wird, und dafs die Reinzucht deshalb von keinem Nutzen wäre. Es ist wahr, dafs sie sogleich wieder infiziert wird, aber ganz unrichtig ist, dafs sie in der Regel binnen kurzer Zeit in einem solchen Grade infiziert wird, dafs sie dadurch unbrauchbar wird. Selbst unter sehr ungünstigen Verhältnissen bringt die reine Hefe immer ihren Nutzen und mufs immer der unreinen vorgezogen werden. Als Beispiel kann ich hier mitteilen, dafs die Hefeart, welche wir in Alt-Carlsberg Nr. 1 nennen, sich in

der genannten Brauerei 6—8 Monate und die andere ebendaselbst früher benutzte Hefenart Nr. 2, die zu den wenig widerstandsfähigen gehört, sich 2—4 Monate hinreichend rein hielten. Dies geschah zu einer Zeit, da die ganze Menge Würze für die Gärbottiche noch auf den gewöhnlichen offenen Kühlschiffen gekühlt worden ist. Hier wird überhaupt nur von den Verhältnissen gesprochen, wie sie in der grofsen Mehrzahl der Brauereien sind; im folgenden aber werden Apparate und Einrichtungen erwähnt, wodurch jede Infektion sozusagen verhindert wird.

Eine Einwendung, welche öfters gegen meine Bestrebungen gerichtet worden ist, ist folgende: In einer Brauerei ist zu einer Zeit, wo alles mit der alten, unreinen Hefe gut verlief, eine Reinkultur als Probe eingeführt worden, und ein Vergleich zwischen den mit den zwei Hefesorten produzierten Bieren auf genaue Weise angestellt. Das Resultat ergab dann, dafs mit der neuen Hefe eigentlich nichts erreicht war. Warum denn nicht mit der alten Methode fortfahren? Ja, wenn wirklich eine Methode darin wäre, so wäre schon alles gut, diese aber ist es, welche eben fehlt. Die Brauer können, wie gesagt, dadurch nie Sicherheit bekommen, sondern sind grofsen Schwankungen und unbekannten Gefahren preisgegeben. Die Sicherheit, ein rationeller Betrieb, ist das einzig Neue, welches die reine Hefe bringt. Ein vollständiges Mifsverständnis ist es, wenn man glaubt, dafs sie ein besseres Produkt geben sollte, als dasjenige, welches der Brauer im glücklichsten Falle mit seiner alten unreinen Hefe erhalten kann. Wenn die reine Hefe richtig gewählt ist, gibt sie eben dies, und im Gegensatze zu der unreinen Hefe gibt sie es immer, so lange sie nur irgend unter denselben Verhältnissen kultiviert wird.

Eine und dieselbe Hefenart pafst nicht für alle Brauereien. Es hat sich nämlich, wie schon früher erwähnt, ergeben, nicht nur dafs die Kulturhefe aus mehreren Arten oder Rassen besteht, sondern auch, dafs diese Biere von ungleicher Beschaffenheit, ungleicher Haltbarkeit, ungleichem Geschmacke geben, und dafs sie in etwas verschiedener Weise im Gär- und Lagerkeller arbeiten. Jede einzelne Brauerei mufs daher nach einem bestimmten Plane eine solche Art auswählen, die für ihren Betrieb pafst, und dies gehört eben zu den wesentlichsten Fortschritten, welche meine Arbeiten gebracht haben, dafs dies nun mit Sicherheit ausgeführt werden kann. Dafs es Arten gibt, die für eine gröfsere Anzahl von Brauereien passen, hat die Erfahrung doch schon ergeben. Solche sind für die zymotechnischen Laboratorien als Stammformen besonders zur Aufbewahrung geeignet. Zu weit würde man gehen, falls es dazu käme, dafs jede Brauerei ihre eigene Hefenart haben

wollte. Zur Zeit ist eine Tendenz in dieser Richtung vorhanden, deshalb ist es meine Absicht, hier davor zu warnen.

Eine rein kultivierte Hefenart, von einer gewöhnlichen unreinen Brauereihefe ausgeschieden, die also in der Regel von einer Mischung mehrerer verschiedener Hefesorten herstammt, gibt nicht genau dasselbe Produkt wie die Mischung. In dem Geschmacke tritt namentlich fast immer eine kleine und bisweilen sogar recht deutliche Differenz hervor. Es ist folglich ein Mifsverständnis, wenn mehrere Brauer gemeint haben, dafs die rein kultivierte Hefenart ihnen ein Bier mit genau demselben Geschmacke geben sollte als das Bier, aus dessen unreiner Hefe die betreffende Hefenart ursprünglich ausgeschieden wurde. Sie bekommen ein feineres und vor allem ein konstantes Produkt, aber ein von dem früheren etwas verschiedenes. Diese Thatsache kann nicht stark genug hervorgehoben werden. Ein grofser praktischer Mifsgriff ist es daher, wenn der Brauer plötzlich in seinem ganzen Betriebe die reine Hefe einführt. Sein Bier wird dann leicht jählings einen andern Charakter bekommen, welches bei manchen Kundschaften Mifsvergnügen hervorrufen kann. Die Veränderung mufs nach und nach eingeführt werden, und es geschieht dann nichts anderes, als was früher auch immer in jeder Brauerei stattgefunden hat. Wenn sie ordentlich eingeführt worden ist, hat man dadurch einen grofsen Vorteil erreicht. Der verstorbene Besitzer Alt-Carlsbergs, Herr Kapitän Jacobsen, hat in einer klaren und eindringenden Weise in seinen Publikationen über diese Angelegenheit diese Verhältnisse hervorgehoben; demungeachtet treten aber Mifsverständnisse und Mifsgriffe noch jeden Tag hervor.

Man dürfte mich vielleicht jetzt fragen, ob man nicht durch Anwendung von Mischungen einer im voraus genau gekannten Zusammensetzung auf den Geschmack des Bieres einwirken und dadurch Variationen bekommen könnte, die vielleicht beim Publikum Eingang finden würden. Dafs solches jetzt auch rationell durchführbar ist, ist selbstverständlich. Die Kulturhefe wird dann z. B. mit einer wilden Hefenart gemischt, welche wie mein Sacch. Pastorianus II keine Krankheit hervorruft. In einigen Fällen wird man diese Vermischung mit der Stellhefe selbst, in anderen dagegen erst am Ende der Hauptgärung vornehmen können. Auch steht es in unserer Macht, garantierte Mischungen von verschiedenen Brauerei-Hefenarten herzustellen. In einigen wenigen Brauereien führt man zwei Kultur-Hefenrassen, jede für sich, und mischt am Ende der Hauptgärung die davon resultierenden Biere. Ich kann aber solche Mischungen gar nicht empfehlen, seien sie auch durch zuverlässige Analysen vollständig garantiert. Das Ideal jeder Fabrikation ist, so einfach und sicher wie möglich arbeiten zu können, und es ist eine ausgemachte Sache, dafs man leichter einen

Faktor als mehrere derselben beherrschen kann, selbst wenn sie alle vollständig bekannt sind. In mehreren Fällen wird die Mischung auch gerade eine weniger günstigere Gärung hervorrufen. Endlich muss man sich erinnern, dafs die Verhältniszahl zwischen den in der Mischung ursprünglich anwesenden Arten nach kurzer Zeit verrückt wird. Eine solche Hefe gibt desshalb Schwankungen, von welchen man frei ist, wenn man mit einer Reinhefe einer einzelnen Art arbeitet.

Das Verfahren, welches ich in der ersten Auflage dieses Heftes im Jahre 1888 angegeben habe, wird noch immer in den verschiedenen Ländern befolgt. Eine nicht geringe praktische Bedeutung hat doch während den letzten Jahren der Reinzuchtapparat, welchen Brauereidirektor Kapitän Kühle und ich konstruiert haben, erhalten. Durch diesen ist man nämlich in den Stand gesetzt, in kurzen Zeiträumen grofse Massen von reingezüchteter Hefe in den Betrieb zu bringen. Eine ausführliche Beschreibung dieser Einrichtung wird im nächsten Kapitel gegeben werden. Eine Verbesserung, welche gleichfalls mit der Anwendung meiner reinkultivierten Hefenarten in inniger Beziehung steht, wurde vom verstorbenen J. C. Jacobsen im Jahre 1885 in Alt-Carlsberg eingeführt. Er stellte nämlich zu dieser Zeit einen Apparat auf, in welchem die von der Brauerei kommende, siedendheifse Würze abgekühlt und gelüftet werden kann, ohne mit den im Staube der Luft sich befindenden Mikroorganismen in Berührung zu kommen. Der Gedanke, statt offener Kühlschiffe verschlossene sterilisierte Behälter anzuwenden, ist, wie voran berührt, von Pasteur ausgegangen; später hat Velten in Marseille einen ähnlichen konstruiert, eine wirklich praktische Bedeutung bekam er aber bisher nicht, weil das Wesentlichste fehlte. Von welchem Nutzen konnte es nämlich sein, eine sterile Würze zu haben, wenn die Hefe, welche darin angestellt wurde, mit Krankheitskeimen verunreinigt war! Veltens Konstruktion war aufserdem in mehreren Beziehungen weniger glücklich; dieses gilt namentlich von der Weise, auf welche die Luft sterilisiert wurde, nämlich durch Glühen nach Schwanns Methode. Nach meinem Vorschlage führte der gegenwärtige Direktor der Brauerei, Kapitän Kühle, Baumwollenfilter ein. Durch seine mehrjährigen Versuche bekam der Alt-Carlsberg-Apparat nach und nach die praktisch vorzügliche Einrichtung, welche er jetzt hat.[1])

[1]) Über diesen Apparat und seine Anwendung siehe die zwei Abhandlungen: Just Chr. Holm, Die Vorrichtungen in der Brauerei zur Kühlung und Lüftung der Würze (Zeitschrift f. das ges. Brauw. 1887 No. 20). Anton Petersen, Einige Bemerkungen über das Lüften der Würze (ebenda 1888 No. 3).

Erst als die Hefenfrage gelöst worden war, konnte auch die Frage über die Abschaffung der Kühlschiffe mit Recht aufgestellt werden, und auch erst dann hat Jacobsen die oben erwähnten Apparate eingeführt. Einen Apparat nach demselben Prinzipe wie letztgenannter, in mehreren Richtungen aber davon verschieden, hat Herr C. Jacobsen in Neu-Carlsberg aufgestellt. In den vorhergehenden deutschen Ausgaben meiner vorliegenden Untersuchungen sprach ich mich über diese Bewegung auf folgende Weise aus: »Jetzt ist der Zeitpunkt gekommen, und es unterliegt deshalb keinem Zweifel, dafs diese Verbesserung von nun an nach und nach ihren Eingang in mehrere der Brauereien, wo die reine Hefe ihre Probe bestanden hat, halten und also dazu dienen wird, das neue System zu vervollständigen.« Dies ist auch in Erfüllung gegangen, der Alt-Carlsberg-Apparat ist Modell für eine ganze Reihe Nachahmungen und Modifikationen, namentlich in Deutschland, geworden. In jüngster Zeit wurde auch die Centrifuge von A. Bergh in dieser Weise angewendet.[1])

In der vorhergehenden Darstellung ist hauptsächlich auf Untergärungs-Brauereien Bezug genommen. Dafs meine Arbeiten jedoch mit passenden Änderungen auch in den Obergärungs-Brauereien sowie in den übrigen Zweigen der Gärungsindustrie mit Vorteil angewendet werden, ist aus der im 2. Hefte gegebenen Übersicht über die gegenwärtige Verbreitung meines Hefereinzucht-Systems ersichtlich.

5. Die fabrikmäfsige Darstellung reingezüchteter Hefen.

Die Vorarbeiten.

Wir nehmen ganz natürlich unsern Ausgangspunkt in der Brauerei selbst. Findet sich hier eine Hefe, welche auf eine zufriedenstellende Weise arbeitet sowohl während der Haupt-, als während der Nachgärung und die, was das Wichtigste ist, ein Produkt mit den Eigenschaften, die der betreffende Brauer wünscht, gibt, entsteht selbstverständlich der Wunsch, sie zu erhalten. In vielen und vielleicht in den meisten Fällen besteht die Hauptmasse einer solchen Hefe aus einer Kulturart, nur mit einer ganz unbedeutenden Vermischung mit anderen Mikroorganismen. Unter solchen Umständen wird das Resultat auch wesentlich durch die Kulturhefe hervorgerufen; sie wird für sich allein das gewünschte Produkt geben.

Gleich im Anfange, als ich praktische Studien über Brauerei-Unterhefe und wilde Hefe in Angriff nahm, machte ich die Beobachtung, dafs, wenn sie alle beide in der Stellhefe miteinander gemischt waren,

[1]) Siehe die Mitteilungen von Jörgensen und P. Poulsen in der Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1890.

in den oberflächlichen Schichten des Bieres die letztgenannte mit einer im Verhältnis zur Kulturhefe viel geringeren Anzahl von Zellen im Anfange der Hauptgärung als am Ende derselben auftritt. Ehe die reine Hefe eingeführt wurde, hatte ich sehr oft die Gelegenheit, dies in den Gärbottichen sowohl in Alt-, als in Neu-Carlsberg zu beobachten. Später erhielt ich dasselbe Resultat, indem ich planmäfsige Versuche darüber machte, teils in kleinen Bottichen in einem Gärkeller, teils in Kolben im Laboratorium mit gewöhnlicher Würze und mit im voraus bestimmten Hefenmischungen von sowohl Carlsberg Unterhefe Nr. 1 als Nr. 2 und meinen drei Krankheitsformen Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoideus II. Dafs dies von mir so angegebene Verhalten im Brauereibetriebe häufig vorkommt, ist also bewiesen, und viel spricht dafür, dafs es möglicherweise sogar als Regel aufgestellt werden kann. Was hier mitgeteilt ist, gibt eine Erklärung darüber, warum es wenigstens in vielen Fällen in den Brauereien ein empfehlenswertes Verfahren ist, die Würze, in welcher die Gärung eben angekommen ist, als Stellhefe zu benutzen, statt, wie es gewöhnlich geht, bis ans Ende der Hauptgärung zu warten und dann nur die Bodensatzhefe zu benutzen. Selbstverständlich erhält man doch in dieser Weise keine wirkliche Reinkultur.[1]) Diesen Beobachtungen zufolge habe ich bereits in der ersten Ausgabe dieser Untersuchungen angegeben, dafs die Probe zur Analyse für wilde Hefen am besten am Ende der Hauptgärung und die Probe zur Darstellung der gewünschten Reinkultur der Brauereihefe am besten im Anfange der Hauptgärung zu nehmen ist; in beiden Fällen aus der Oberfläche der Würze. Diese Aufschlüsse haben eine nicht geringe praktische Bedeutung bekommen.

Wenn die Brauereihefe, von welcher eine Reinkultur hergestellt werden soll, so leidlich rein ist, wird man dem oben Erwähnten zufolge in den ersten Stadien der Gärung eine Vegetation haben, welche sich der Reinkultur mehr oder weniger nähert. Praktisch ist es also für unsere Versuche, eine Durchschnittsprobe aus der Oberfläche der Würze eines Gärbottichs zu nehmen, wenn eine schwache Schaumdecke sich eben gebildet hat. Verhältnismäfsig leicht ist es, von dieser eine Reinkultur der Brauereihefe zu bereiten, die im Übergewicht ist, und welche wir ja nach der vorhergehenden Erwägung eben darum wünschen.

Ist die Brauerei von dem betreffenden Laboratorium weit entfernt, wird es in der Regel das beste sein, die Arbeit mit gewöhnlicher Bodensatzhefe anzufangen und, falls sie nicht geschwächt ist, kann man sie gleich anwenden, wie sie ist, andernfalls wird erst eine Gärung in den

[1]) Siehe auch: J. Vuylsteke, „Ein Beitrag zur Entwickelungsgeschichte der Mischsaaten von Saccharomyceten." (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 1889 Nr. 1.)

Gang gesetzt in einem Kolben mit sterilisierter Würze. Sobald die Gärung hier anfängt, wird ein wenig von der Flüssigkeit abgegossen, um die sich darin befindenden Zellen zur Reinzucht zu benutzen. Durch diese Arbeiten bezwecken wir, nicht nur Vegetationen, in welchen die gewünschte Art der Zahl nach im Übergewicht ist, sondern auch junge und kräftige Zellen zu erhalten. Das letztere bezieht sich auf die Behandlung, welcher sie während der Arbeiten, um eine Reinkultur von ihnen herzustellen, unterworfen werden. Die dazu gehörende Methode habe ich schon oben beschrieben (siehe S. 4).[1])

Im vorhergehenden wurde der Fall erwähnt, dafs eine einzelne Hefenart in der Mischung im Übergewicht war, von welcher wir unsern Ausgangspunkt genommen haben, und zwar in der Weise, dafs sie vorzugsweise die ganze Gärung bewirkte und den Charakter des Produktes bestimmte. In den Brauereien kommen indessen auch solche Fälle vor, wo nicht eine Art, sondern mehrere nebeneinander die Herrschaft teilen und folglich auch in Verbindung miteinander das Resultat ergeben. Unter solchen Umständen wird eine Reinkultur einer der Arten in der Regel ein Produkt mit ganz anderen Eigenschaften als die der Mischung geben. Die verschiedenen Arten, aus welchen diese bestand, lassen sich zwar sehr wohl von einander ausscheiden, und es ist folglich möglich, zu jeder Zeit die Mischung zu bereiten, mit einiger Schwierigkeit sogar die Arten in den gewünschten Verhältnissen einzuführen; weil wir aber auf die Länge nicht im Stande sind, diese zu beherrschen, werden diejenigen Spezies, welche in der jetzt eintretenden Konkurrenz am kräftigsten sind, das Übergewicht bekommen und dadurch sogleich Störungen hervorrufen. Ein konstantes Produkt kann unter solchen Umständen nur mit grofser Mühe erreicht werden, und die Reinzucht hat deshalb hier eigentlich keinen praktischen Wert. Wollte man dies dennoch versuchen, müfste man jede einzelne Portion Stellhefe für sich nach der ein für alle Mal bestimmten Regel zubereiten, oder jede Hefeart für sich gären lassen, um dann erst am Ende der Hauptgärung die Biere zusammenzumischen. Wie die Arbeitsweise in den Brauereien jetzt ist, kann ich mir die Durchführung eines so weitläufigen Verfahrens nicht als praktisch denken, und ich habe deshalb auch schon i. J. 1888 in der ersten deutschen Ausgabe dieser Untersuchungen davon abgeraten.

Unter den Kulturarten, welche man aus einer solchen Mischung ausgeschieden hat, wird man oft mehrere finden können, die für die

---

[1]) Die Kolben und Apparate, welche in meinem Laboratorium benutzt werden, sind bei F. C. Jacob, Hauserplads 14 in Kopenhagen, sowie bei Dr. Rohrbeck, Karlstrafse 24 in Berlin zu haben.

Praxis Wert haben. Über ihre Eigenschaften kann jedoch nichts angegeben werden, ehe sie geprüft sind. (Siehe übrigens das Kapitel „Beobachtungen über Brauerei-Hefearten".) Und es mufs daran erinnert werden, dafs die Versuche mit kleinen Massen, wie sie in einem Laboratorium ausgeführt werden können, nur ungenügende Aufschlüsse in dieser Richtung geben; die Probe mufs im Betriebe selbst unter den dort herrschenden Verhältnissen angestellt werden. Es wird also in diesem Falle mehrere Monate dauern, ehe wir ein Resultat bekommen können.[1])

Wie man sich erinnern wird, benützen wir im allgemeinen Würze-Gelatine zur Herstellung unserer Reinkulturen und unternehmen die Züchtung bei 25° C., unter solchen Umständen können zeitweilige Varietäten entstehen, und obzwar sie nur flüchtiger Natur sind, können sie doch mitunter Schwierigkeiten verursachen. Glücklicherweise gehören sie zu den selteneren Fällen. Man muss dann meine ältere Methode zur Herstellung von Reinkulturen anwenden, d. h. die Zellindividuen müssen direkt in die Kolben, welche Würze, aber nicht Gelatine enthalten, gethan werden, und das Wachstum muss bei Untergärungstemperatur vor sich gehen. Unter diesen Umständen ist auch zu empfehlen, mehrere Reinkulturen, derselben Art angehörend, in einem Kolben zu vereinigen. So erhält man eine Reinkultur einer einzelnen Art, aber zugleich eine Kultur, welche nicht, wie es sonst gewöhnlich der Fall ist, Abkömmlinge von einem, sondern von mehreren Zellindividuen enthält, und sie wird daher alle Eigenthümlichkeiten der betreffenden Art schon in ihren ersten Entwickelungsstadien zeigen. Nur sehr wenige und zur Variation besonders geneigte Arten und Rassen bedürfen solcher umständlichen Behandlung. In den meisten Fällen wird die gewöhnliche Einzelkultur sogleich eine normale Gärung geben.

Nehmen wir an, dafs unsere Reinkultur gelungen ist, und dafs wir in einem Kolben eine kräftige Vegetation der ausgewählten Art haben, so müssen wir vor allem dafür sorgen, diese für die Zukunft zu erhalten. Vorsichtshalber begnügen wir uns nicht mit einem einzigen Kolben, sondern stellen einen Reservekolben hin, so dafs wir sicher sind, dafs zu jeder Zeit eine lebendige und reine Hefe vorhanden ist. In Kolben mit Bierwürze bewahren die meisten Saccharomyces-Arten ihr Leben ein ganzes Jahr oder noch länger bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, wenn sie dem direkten Sonnenlicht nicht ausgesetzt werden;

[1]) Die verschiedenen Laboratorien, welche sich mit Hefe-Reinzucht nach meiner Methode beschäftigen, haben alle schon grofse Sammlungen von in der Praxis geprüften Hefenarten und sind im stande, augenblicklich eine passende Stellhefe zu liefern. In den wenigsten Fällen wird man jetzt daher Veranlassung haben, die oben beschriebenen langwierigen Proben anzustellen.

in einigen Fällen habe ich jedoch gefunden, dafs der Tod schon vor Jahresfrist eingetreten ist, und unter dem Einflufs starken Sonnenlichtes und der damit verbundenen hohen Temperatur, welche, wenn auch gewöhnlich nur für kürzere Zeit, dann eintritt, sterben sie viel schneller ab. Man mufs daher diese Kulturen in einem finstern Schranke oder wenigstens in einem solchen aufbewahren, welcher nur dem indirekten Sonnenlichte ausgesetzt ist; dieses gilt auch, wenn die Züchtung in anderen Flüssigkeiten vorgenommen wird. Zufolge einiger Untersuchungen von Duclaux über die Lebensdauer der Hefenzellen in Bierwürze könnte man annehmen, dafs diese Flüfsigkeit in der oben genannten Richtung alles leistet, was man sich wünschen kann. Meine oben genannten Versuche stimmen aber, wie wir gesehen haben, nicht ganz damit überein. Die beste Flüssigkeit zur Aufbewahrung der Hefe, die ich kenne, wenn es sich um eine mehrere Jahre lange Aufbewahrung handelt, ist nicht Bierwürze, sondern eine wässerige Auflösung von Saccharose; gewöhnlich verwende ich dazu eine 10prozentige Lösung. Ich habe Kolben mit dieser Lösung, in welchen ich vor 14 Jahren sowohl Brauereihefen als Weinhefen anbrachte, und sie enthalten noch alle lebende Vegetationen der betreffenden Spezies. Mehrere Hefenarten, die in der genannten Zuckerlösung ihr Leben über 10 Jahren fortsetzten, starben dagegen in Bierwürze im Laufe von 1 bis 3 Jahren ab.

Die von mir angegebene Konservierungsmethode in sterilisiertem Filtrierpapier (siehe meine Abhandlung über die Askosporenbildung, Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg 1883 S. 29) ist sehr praktisch, wenn vom Versenden kleiner Hefeproben die Rede ist, und wird auch allgemein von den Laboratorien, welche sich mit Reinzüchtungen von Brauereihefe beschäftigen, angewendet, indem nämlich die Proben von den Brauereien auf diese Weise eingesendet werden. Als Resultat der Versuche, die ich bis im Frühjahre 1883 gemacht hatte, teilte ich in der oben citierten Abhandlung mit, dafs Hefezellen in Filtrierpapier in einigen Fällen ihre Lebenskraft während 20, in anderen dagegen nur während 5 Monaten bewahren können. Bei späteren Versuchen habe ich gefunden, dafs ein vollständiges Aussterben nicht früher als nach ungefähr 5 Monaten stattfindet, und dafs die meisten Arten unter den angegebenen Verhältnissen ein zweijähriges Leben nicht erreichen; nur eine Probe war nach 2½ Jahren noch lebendig. Die Versuche wurden mit jungen, kräftigen Zellen gemacht, und die Präparate lagen in einer Schublade bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Es mufs erinnert werden, dafs die Hefe bei dieser Aufbewahrungsmethode in ein Couvert von Filtrierpapier gebracht wird. Auf diese Wéise kann man indessen nicht mit Sicherheit eine Rein-

kultur aufbewahren. Wenn man jedoch hierzu dasselbe Princip anwenden will, wird es am besten vermittels des von mir weiter unten beschriebenen mit Baumwolle versehenen Kolbens erreicht. Unter diesen Umständen bilden mehrere Spezies oft Sporen, und diese setzen ihr Leben länger als die vegetativen Zellen fort.

Aus den oben angeführten Gründen sind Kolben mit Saccharoselösung im allgemeinen das beste Aufbewahrungsmittel, und wir sehen also, dafs es für die zymotechnischen Laboratorien keine Schwierigkeiten darbietet, eine ganze Reihe von geprüften Kulturhefensorten herzustellen, so dafs die Brauereien, Brennereien u. s. w. zu jeder Zeit diejenigen, welche sie wünschen, erhalten können. Jörgensens Laboratorium hat z. B. eine solche Sammlung von ungefähr 200 Kulturhefen. Seiner mündlichen Mitteilung zufolge sind noch keine dieser Saccharose-Vegetationen gestorben, obzwar mehrere derselben 9 Jahre alt sind; sie stehen in einem Zimmer bei gewöhnlicher, besonders zur Zeit des Sommers, ziemlich hoher Temperatur. Von diesen Kolben propagiert er in Bierwürze die von seinen Kundschaften gewünschten Hefen, sowohl obergärige als untergärige. Von Aufhebung in Eis oder dergleichen war niemals die Rede. Die Herren Laboratorienvorstände Petersen in Alt-Carlsberg und Prof. Grönlund in Neu-Carlsberg haben ebenfalls mit Erfolg ganz dasselbe Verfahren benutzt. Jörgensen teilt mit, dafs er eine Versuchsreihe angestellt hat, um zu lernen, ob er eine bessere Stellhefe bekam, wenn er sie nicht von den Saccharosekolben, sondern wenn er sie von zu diesem Zwecke angestellten Würzekulturen nähme. Die Aussaat, welche er von den in Pasteurschen Kolben, bei Zimmertemperatur sehr oft und mit kurzen Zwischenräumen verjüngten Würzekulturen nahm, gab aber eine schlechtere Stellhefe als die, welche er direkt von seiner mehrjährigen Saccharosekultur nahm. Auch durch die Aufbewahrung in Impfstrichen in Würzegelatine bekam er kein gutes Resultat. Die bisherigen Erfahrungen laufen also darauf hinaus, dafs die Saccharoselösung, und zwar bei Zimmertemperatur, für Brauereihefen ein gutes Aufbewahrungsmittel bildet; dasselbe gilt wahrscheinlicherweise gleichfalls von den anderen Hefen, welche in der Industrie verwendet werden.

Mein altes Verfahren.

Sobald wir uns unsere Reinkultur zur künftigen Anwendung gesichert haben, gehen wir demnächst zur Darstellung der grofsen Hefemenge für die Brauerei über. Hierzu kommen folgende Apparate zur Anwendung: 4—5 Pasteursche zweihalsige Kolben, jeder mit ca. 1¼ l Rauminhalt, 4 Gefäfse aus Metall, wie sie in Fig. 5 oder 6 dargestellt sind, jedes 10 l fassend.

Beistehende Fig. 3 zeigt uns den Pasteurschen Kolben mit einer kleinen Änderung, indem nämlich das gebogene Rohr mit einer Erweiterung versehen worden ist. Hierdurch leistet er eine noch gröfsere Sicherheit als früher. In einem 1/8 l-Kolben von gleicher Form haben wir unsere Reinkultur; die gröfseren Kolben von 1 1/4 l, welche jetzt gebraucht werden sollen, sind von derselben Form. Der Kolben steht

Fig. 3.

Fig. 4.

auf einer Korkunterlage; das gerade Rohr ist mit einem Kautschukschlauche versehen, in welchem ein Glasstöpsel angebracht ist; in der Mündung des gebogenen Rohres befindet sich ein Asbestpfropfen.

Das metallene Gefäfs wird aus verzinntem Kupfer gemacht. Im Anfange benützte ich Pasteurs Modell (siehe Fig. 4); da es sich aber zeigte, dafs es mit solchen Mängeln behaftet war, dass es sehr schwierig wurde mit demselben mit Sicherheit arbeiten zu können, gab ich es wieder auf. Dieses Gefäfs ist nach oben mit einem Kautschukstöpsel verschlossen, durch dessen zwei Durchbohrungen ein kürzeres, gerades Rohr, zur Einführung der Hefe, und ein langes, gebogenes Rohr, zur Ausführung der Kohlensäure, angebracht sind; oben finden sich ferner zwei Fenster. Das Auszapfen geht durch einen nahe am Boden angebrachten Hahn vor sich. Es sind besonders die Fenster und der Hahn, welche Veranlassung zur Infektion von aufsen geben, wenn das Gefäfs einige Male benutzt ist. In einzelnen Laboratorien wird es doch noch immer benutzt, und ich habe desshalb die beigefügte Abbildung davon gegeben. Im Laufe der Jahre habe ich und meine Assistenten die in Fig. 5 und 6 abgebildeten Gefäfse konstruiert. Das in Fig. 6 dargestellte ist das zur Zeit hier angewandte und ist besonders zu empfehlen, das in Fig. 5 hat aber den Vorteil, billiger zu

sein. Sie sind im allgemeinen das Carlsberg-Gefäfs genannt worden; den Unterschied zwischen diesem und dem von Pasteur sieht man deutlich aus den Abbildungen.

Über die Ursprungsstücke der Rohre *a* und *b* (Fig. 5) werden Kautschukschläuche geschoben, welche auf gewöhnlicher Weise mit Glasstöpseln geschlossen werden; das untere Rohr *b* ist aufserdem mit einem Quetschhahn versehen. Das metallene Stück dieses Rohres mufs so kurz wie möglich sein, und der Quetschhahn, welcher den Kautschukschlauch schliefst, wird so nahe wie möglich an der Mündung des Rohres angebracht. Von dem oberen Teile des Gefäfses geht das gebogene Rohr aus, welches bei *c* in zwei Stücke geteilt ist, die miteinander durch einen Kautschukschlauch verbunden sind. Bei *d* ist die Mündung des Rohres mit einem festgepreſsten Stöpsel von Baumwolle geschlossen, welcher durch eine Glashaube festgehalten wird; *e* ist die früher erwähnte Erweiterung des Rohres, um gegen Infektion, namentlich kurz nach der Sterilisation, zu sichern. Statt des Baumwollefilters benutzen wir jetzt gewöhnlich ein Filter von Asbest, welches

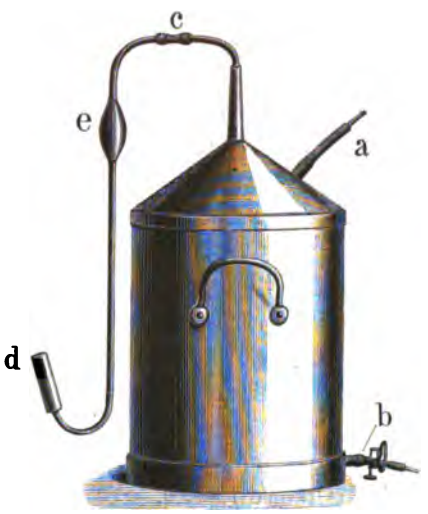


Fig. 5.

Fig 6.

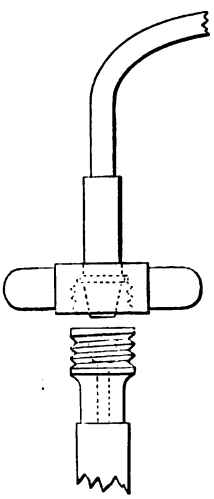


Fig. 7.

in einem Behälter von Messing angebracht ist. Dieser Behälter ist cylindrisch, wird an dem Rohr fest angeschraubt und oben mit einem nur lose anliegenden Deckel versehen. (Fig. 6.)

Die in Fig. 5 dargestellte Form zeigt uns das gebogene Rohr in fester Verbindung mit dem Kolben. Man kann es indessen auch nach dem Vorschlage des Herrn Assistenten Poulsen mit der Spitze des Gefäfses mittelst einer Schraube und zugeschliffenen Stöpsels verbinden (Fig. 6 und 7.) Der Stöpsel und die dazu gehörende Vertiefung, sowie das inwendige Schraubengewinde, sind mit punktierten Linien angegeben (Fig. 7). Der gröfste Diameter des Stöpsels ist 28, der kleinste 25 mm, die Länge 18 mm. Er mufs selbstverständlich gut zugeschliffen werden. Durch diese Vorrichtung sind wir im stande, das ganze Rohr abzunehmen, wenn das Gefäfs gereinigt werden soll, und wir brauchen also den Kautschukschlauch (Fig. 5*c*) hier nicht. Die Reinigung geht übrigens in beiden Fällen leicht vor sich; ist der beschriebene Stöpsel gut gemacht, so empfiehlt sich diese Form des Gefäfses. Die Hauptsache bei diesen und ähnlichen Gefäfsen ist stets die, dafs das Gefäfs vollständig dicht ist, so dafs die Luft nur durch die Mündung des gebogenen Rohres eintreten kann.

Als Nährlösung wird gewöhnliche gehopfte Würze, wie sie in den Brauereien zum Lagerbier gebraut wird, angewendet[1]); mit dieser werden die Glaskolben bis $^2/_3$ gefüllt. Die einfachste Weise, auf welche die Sterilisierung ausgeführt werden kann, ist das Kochen auf dem Sandbade. Wenn die Flüssigkeit angefangen hat, gut zu kochen, wird der Kautschukschlauch, welcher bisher offen war, geschlossen, worauf man eine kurze Zeit die Dämpfe durch das gebogene Rohr herausströmen läfst, dann wird der Kolben auf seine Korkunterlage gestellt, und der Asbeststöpsel schnell angebracht. Wenn man es wünscht, kann man selbstverständlich auch durch Dampf sterilisieren. Durch das hier beschriebene Kochen wird nicht immer erreicht, dafs alle Keime getötet werden. Bringen wir z. B. Proben von einer gröfseren Reihe der auf diese Weise behandelten Kolben in Nährflüssigkeiten, die für eine Bakterienentwicklung besonders günstig sind, und stellen wir diese Kultur in einen Thermostat bei 27—30° C., so werden wir finden, dafs einzelne unserer Würzekolben lebendige Bakterien enthalten. Diese kommen aber in der gekochten Würze nicht zur Entwickelung, und da wir beständig in unseren jetzigen Arbeiten nur diese Flüssigkeit anwenden sollen, bekommt der angegebene Mangel

[1]) Wenn man Hefe für Brennereien, Weinbereitung u. s. w. herzustellen wünscht, wendet man natürlicherweise in Übereinstimmung damit die in diesen Fabrikationen üblichen Nährflüssigkeiten an.

gar keine Bedeutung; praktisch genommen haben wir in der That eine sterile Flüssigkeit.

Die Sterilisierung der Würze in den grofsen Metallgefäfsen (Fig. 5 und 6) bietet etwas gröfsere Schwierigkeiten als die für die kleinen Glaskolben oben beschriebene. Oft habe ich von Schülern, die an meinen Kursen teilgenommen haben, Klagen darüber gehört, dafs sie mit diesen Gefäfsen gar nicht arbeiten könnten; ich gebe deshalb im folgenden eine ausführliche Mitteilung über das Verfahren. Nachdem das Gefäfs gut gereinigt ist, werden ca. 5 l Wasser eingefüllt. Dann wird 1 Stunde lang gekocht, indem das Rohr *a*, sowie auch das gebogene Rohr, offen bleiben; mittels eines in der Flamme gereinigten Glasstöpsels wird der Kautschukschlauch bei *a* geschlossen, und das Kochen noch 15 Minuten fortgesetzt, binnen welcher Zeit die Dämpfe durch das gebogene Rohr hindurchströmen. Während dies geschieht, wird die Gasflamme etwas verkleinert, damit der Druck nicht zu hoch werde. Kurze Zeit bevor man die Flamme auslöscht, wird das Rohr bei *b* geöffnet, um dadurch ca. 100 ccm des kochenden Wassers abzuzapfen. Hierdurch bekommt man die Sicherheit, dafs dieses Rohr und sein Inhalt sterilisiert werden. Darauf wird wie früher mit dem Quetschhahn und dem Glasstöpsel geschlossen. Dieser mufs zuvor ziemlich stark in der Flamme erhitzt werden. Das Kochen ist jetzt vorbei, und man hat nur den Watteverschluss (*d*) über die untere Öffnung des gebogenen Rohres festzupressen oder das Asbestfilter anzuschrauben. Ehe die Würze in das Gefäfs gegossen wird, mufs das Wasser natürlicherweise entfernt werden, wenigstens der gröfste Teil desselben. Eine Mischung von 7 l Würze und $^1/_2$ l Wasser wird passend sein. Die Sterilisierung geht auf dieselbe Weise und in derselben Zeit wie die des Wassers vor sich; doch wird am Ende eine gröfsere Vorsicht angewendet. Während 100 ccm der kochenden Würze aus dem Rohre *b* abgezapft werden, und während man im Laufe von $^1/_4$ Stunde die Dämpfe durch das gebogene Rohr strömen läfst, erwärmt man nämlich das letztgenannte stark mit einer andern Gasflamme als diejenige, die zum Kochen angewendet wird, und das Filter (*d*) wird dann mit gröfster Sorgfalt aufgesetzt. Kurz, man mufs genau dafür sorgen, dafs die während der Abkühlung eingesaugte grofse Luftmenge nicht lebendige Keime mit sich in die Flüssigkeit hineinführe. Unsere Gefäfse, die auf diese Weise behandelt wurden, sind während mehrerer Monate gestanden, ohne dafs die Flüssigkeit von Mikroorganismen angegriffen wurde. Ehe sie in Gebrauch genommen werden, müssen durch das Rohr *b* Proben von jedem einzelnen Gefäfse genommen werden, man erwärmt dann das gebogene Rohr, damit die während des Ausströmens der Flüssigkeit eindringende Luft sterilisiert wird.

So lange wir uns für unsere Arbeit mit verhältnismäfsig kleinen Kolben begnügen können, stellen wir diese natürlicherweise aus Glas her. Trotz der Zerbrechlichkeit dieses Materials bieten nämlich die gläsernen Gefäfse wesentliche Vorteile dar, weil sie vermittels ihrer Durchsichtigkeit mit blofsen Augen eine Kontrolle der Flüssigkeit, die sie einschliefsen, gestatten. Wenn diese Kontrolle indessen eine Bedeutung haben soll, darf der Kolben nur so grofs sein, dafs wir von aufsen mit hinlänglicher Sicherheit jede Partie der Flüssigkeit und ihren Bodensatz untersuchen können. Mit einem Inhalt von 1—2 l wird die Grenze der in dieser Hinsicht zulässigen Gröfse wohl erreicht sein. Machen wir nämlich unsere Glaskolben noch gröfser, so kann es geschehen, dafs die sich darin befindende Flüssigkeit kleine Kolonien von verschiedenen Mikroorganismen einschliefst, ohne dafs wir sie zu entdecken im stande sind, und zwar Kolonien von einer solchen Gröfse, dafs wir, wenn sie in den kleineren Kolben mit ihren verhältnismäfsig geringeren Flüssigkeitsmengen gegenwärtig gewesen wären, sie gleich bemerkt hätten. Nur wenn die Kolonien der vorhandenen Mikroorganismen sehr grofse Dimensionen annehmen, werden wir sie in den grofsen Glasballons erblicken können; unter solchen Umständen werden wir aber dieselbe Entdeckung machen können, wenn wir kleine Proben von unseren Metallgefäfsen herausnehmen. Ein Glaskolben von 10 l oder noch gröfserem Volumen leistet uns folglich in der erwähnten Richtung nicht gröfsere Hilfe als ein ebenso grofses Gefäfs aus Metall; und da das letztere stärker und leichter zu behandeln ist, wählen wir natürlicherweise ein solches.

Wenn wir auf diese Weise in unseren Kolben und Gefäfsen eine sterile Würze bekommen haben, wird es am besten sein, diese eine Zeitlang ruhig stehen zu lassen, damit die Flüssigkeit durch das gebogene Rohr Sauerstoff aus der Luft aufnehmen kann. Es hat sich nämlich in einigen Versuchen gezeigt, dafs die Hefe, welche in gelüfteter Würze entstanden war, gleich von Anfang an eine schöne normale Klärung gab, während dieselbe Hefe von einem ganz ähnlichen Versuche, aber in nicht gelüfteter Würze, eine schlechte Klärung gab und erst nach mehreren Gärungen wieder normal wurde. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von Aubry und A. Jörgensen mitgeteilt. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 1890). Diese Erscheinung verdient noch genauer untersucht zu werden. Nach der Erfahrung, die vorliegt, ist es also zu empfehlen, mit gelüfteter Würze zu arbeiten. Auch noch aus einem andern Grunde ist dies sehr wichtig, wenn man nämlich wünscht, in dem betreffenden Gefäfse eine festliegende Bodensatzhefe zu bekommen. Dies gilt besonders, wenn von Arten wie die Carlsberger Unterhefe Nr. 1 die Rede ist. Dafs die Würze in den

erwähnten Kolben und Gefäfsen merklich beim Stehen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur Sauerstoff aus der Luft aufnimmt, war sehr leicht nachzuweisen. Nach Verlauf von 4 Monaten enthielt die sterilisierte Würze sogar verhältnismäfsig mehr freien Sauerstoff als die normal gelüftete, die von den Kühlschiffen in die Gärkeller hinunterläuft. Einige noch nicht abgeschlossene Versuche mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1, welche eine unter normalen Verhältnissen schlecht klärende Hefe ist, haben gezeigt, dafs es in den oben genannten Beziehungen von besonderer Wichtigkeit ist, die Würze eben bei den hohen Temperaturen gut durchzulüften.

In den meisten Laboratorien werden die Carlsberg-Gefäfse auf die Weise, welche ich obenstehend angegeben habe, behandelt; besondere Vorrichtungen zur Lüftung der Würze sind also nicht getroffen. In unserem Laboratorium pflegen wir doch ein bedeutendes Quantum steriler Luft in die Würze, während dieselbe noch kocht, einzuführen. Diese Luft kommt aus einem Behälter, in welchem ein Druck von 3—4 Atm. ist, und wird danach von allen ihren Keimen in einem, der S. 56 beschriebenen Baumwollenfilter gereinigt. Der Sicherheit wegen wird das gebogene Rohr des Gefäfses, durch welches der Dampf hinausgeht, mittels einer Flamme erwärmt. In den Kautschukschlauch, der sich nahe an dem Boden des Gefäfses befindet, wird ein steriles Glasrohr eingeschoben, das darauf in Verbindung mit dem Baumwollenfilter gebracht wird; wenn dies geschehen ist, öffnet man den Quetschhahn des Kautschukschlauches und öffnet zu derselben Zeit den Lufthahn. Sobald die Lüftung angefangen hat, wird die Gaslampe unter dem Gefäfse gelöscht und einige Minuten danach auch die Lampe, welche das gebogene Rohr aufwärmt. Man fährt mit der Lüftung fort bis die Temperatur der Würze auf 30—35° C. gesunken ist; falls man weiter geht, wird Schaum leicht in das gebogene Rohr emporsteigen. Herr Assistent Nielsen fand, dafs zur Lüftung der Würze in einem unserer Carlsberg-Gefäfse 60 l gebraucht wurden; die Zufuhr dieser Luftmenge geschah in 5—6 Stunden. Prior hat eine selbstthätige Lüftungsvorrichtung an seinen Gefäfsen angebracht. (Bayer. Brauer-Journal 1891.)

Mit einer kräftigen Vegetation von unserer Reinkultur werden nun die 4 oder 5 früher erwähnten Glaskolben mit Würze infiziert, eigentlich brauchen wir nur 4; der fünfte ist eine Reserve für den Fall, dafs ein Unglück eintreten sollte. Sie werden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur hingestellt, und nach Verlauf einer Woche oder noch früher haben sie einen reichlichen Bodensatz von Hefe gebildet. Der gröfste Teil des Bieres wird dann abgegossen, und nur so viel bleibt zurück, als notwendig ist, um die Hefe loszumachen. Sie wird dann

in die 4 Metallgefäfse übergeführt, indem jedes von seinem Kolben infiziert wird. Dies geschieht durch das Rohr *a*, Fig. 5. Dafs alle diese Arbeiten in solcher Weise ausgeführt werden müssen, dafs keine Infektion von aufsen stattfinden kann, ist selbstverständlich. Hierzu ist eine besondere Kenntnis und eine nicht geringe Übung erforderlich, die man nicht nach einer Beschreibung erlernen kann. Eine deutliche Gärung ist schon am folgenden Tage eingetreten, und man thut dann am besten, dafs man das Filter (*d*) wegnimmt. Wünscht man die Arbeit zu beschleunigen, so geschieht es dadurch, dafs man das gebogene Rohr glüht und gleichzeitig durch Schütteln einen Teil der gebildeten Kohlensäure entfernt. Gewöhnlich wird nach ungefähr 7 Tagen so viel Hefe gebildet sein, als sich überhaupt bilden kann, und die 4 Gefäfse enthalten jetzt Stellhefe für ca. 1 hl Würze.

Hiermit ist die Arbeit im Laboratorium beendet, das Weitere wird im Gärkeller vorgenommen. In diesem stellen wir jetzt ein Gefäfs auf, welches ca. 1½ hl fafst. Es mufs vollständig gereinigt, vor kurzem gefirnifst und mit einem lose darauf liegenden Deckel so bedeckt sein, dafs die Kohlensäure entweichen kann. Die Würze mufs gelüftet sein, und unter gewöhnlichen Brauereiverhältnissen müssen wir uns deshalb mit derjenigen begnügen, die für die gewöhnlichen Gärbottiche angewendet wird. Nachdem mittels einer Gasflamme der Staub an der Oberfläche der vier Gefäfse mit der Reinkultur geglüht worden ist, wird der Inhalt in die erwähnte Würze hineingegossen, indem man durch Schütteln dafür Sorge trägt, dafs die ganze Hefenmenge herauskommt.

Wenn man die teilweise gegorene Würze nicht zugiefsen will, oder wenn die Hefe nicht direkt vom Laboratorium in den betreffenden Gärkeller gebracht werden kann, sondern erst für die Versendung eingepackt werden mufs, so ist es zweckmäfsig, die Gefäfse ein paar Tage länger stehen zu lassen, damit die Hefe sich fest am Boden lagern kann. Unter solchen Umständen wird die Flüssigkeit durch das Rohr *b*, Fig. 5, abgezapft. Dafs man während dieser Abzapfung dafür sorge, die Luft, welche durch das gebogene Rohr eindringt, zu sterilisieren, ist selbstverständlich.

Sobald der früher erwähnte Hektoliter Würze in eine kräftige Gärung gebracht ist, und die ersten Spuren der Kräusendecke sich gezeigt haben, kann man den ganzen Inhalt zu 3—4 hl Würze setzen. Auf diese Weise geht die kleine Portion schnell in den normalen Betrieb hinaus. Dies kann auch dadurch geschehen, dafs man die Hefe gleich anfangs in einem gröfseren Gefäfse, z. B. in einem solchen, das circa 3¼ hl fafst, anstellt, aber in solcher Weise, dafs man im Anfange nur 1 hl Würze hinzusetzt; sobald die Gärung im Gang ist,

wird dann wieder eine ebenso grofse Menge Würze der gärenden Flüssigkeit hinzugefügt, und nachdem sie gut angekommen ist und also eine Decke entwickelt hat, wird wieder 1 hl Würze hinzugefügt. Im Anfange wendet man am liebsten eine Würze an, die eine Temperatur hat, welche ein wenig höher ist, als die des Gärkellers; dies gilt besonders dann, wenn das Gefäfs klein ist. Wenn man aber will, so kann man auch sehr gut vom Anfang an jede Gärung auf gewöhnliche Weise zu Ende bringen und die gebildete Bodensatzhefe erst am Ende der Hauptgärung wegnehmen. Diese wird abgewogen und mit einer nach ihrem Gewichte passenden Menge Würze angestellt. Es mufs bemerkt werden, dafs eine solche Reinkultur oft, wenn auch bei weitem nicht immer, in den ersten Gärbottichen ein wenig stärker attenuiert und auch im Anfange eine weniger gute Klärung gibt. Viele Brauer sind hierdurch erschreckt worden, jedoch ohne Grund.

Nach diesem Verfahren ist bis zur Einführung des unten zu beschreibenden grofsen Reinzuchtapparates in den Brauereien mit meinen reinkultivierten Hefenarten gearbeitet worden, und dasselbe wird noch an zahlreichen Orten des In- und Auslandes angewendet. Es hat grofsen Nutzen gestiftet und wird dies auch fernerhin thun.

Der Reinzuchtapparat.

Es wurde oben bemerkt, dafs einige Bier-Hefenarten weniger widerstandsfähig gegen die Konkurrenten sind als andere, und als Beispiel wurde Carlsberger Unterhefe Nr. 2 erwähnt. Wenn man mit Arten, wie diese ist, arbeitet, so ist die Gefahr, dafs Krankheitskeime die Oberhand bekommen können, verhältnismäfsig grofs. Es ist deshalb unter solchen Umständen von besonderer Bedeutung, dafs man grofse Mengen absolut reiner Hefe in möglichst kurzen Zwischenräumen durch den Gärkeller passieren lasse, um auf diese Weise die ältere verunreinigte Hefe zu verdrängen. Nach meinem alten, oben beschriebenen Verfahren war es schon eine ziemlich grofse Arbeit, zweimal monatlich der Brauerei reine Stellhefe für 1 hl Würze zu liefern; und weil dieses doch nicht für alle Arten genügt, wenn man vollständige Sicherheit haben will, so entstand ganz natürlich bei mir der Wunsch, noch weiter zu gehen. Ich wendete mich in dieser Angelegenheit an Herrn Kapitän Kühle, Direktor der Brauerei Alt-Carlsberg, und im Jahre 1885 begannen wir gemeinschaftlich daran zu arbeiten, einen Apparat zur kontinuierlichen Massenproduktion absolut reiner Hefe im Gärkeller selbst zu installieren. Nach einigen Versuchen wurde dies auch erreicht; die Ehre dafür gebührt hauptsächlich Herrn Kapitän Kühle. Eine kurze Mitteilung darüber habe ich schon bei der Generalversammlung des österr. Brauerbundes in Graz am 12. Juni 1887 gemacht.

Bei der Ausarbeitung der nachfolgenden Mitteilungen habe ich als Ziel im Auge gehabt, dafs sie von jedem denkenden Leser verstanden werden sollen, ohne dafs in einem Punkte spezielle Vorkenntnisse erforderlich sind. Ferner ist es mein Wunsch gewesen, so genaue und so ausführliche Aufschlüsse zu geben, dafs der verständige Praktiker hier jede vernünftige Frage beantwortet findet, so dafs er ohne Verlust an Zeit und Geld den Apparat aufstellen und damit arbeiten kann. Wer ein Werk geben will, welches in der Praxis Nutzen stiften soll, darf sich nicht auf grofse Umrisse beschränken, sondern er mufs die Einzelheiten ausarbeiten; viele Sachen, die in der Theorie wie Kleinigkeiten aussehen, haben in einem solchen Falle eben eine besondere Bedeutung. In Übereinstimmung hiermit ist auch alles, was hier mitgeteilt wird, in mehreren Brauereien geprüft worden und als Resultat einer mehrjährigen Erfahrung zu betrachten.

In der nachfolgenden Beschreibung wird erstens diejenige Form des Apparates, bei welcher weder der Gärungs- noch der Würzecylinder mit Wasserkappen versehen sind, beschrieben. Der erstgenannte Cylinder wird mit einem isolierenden Materiale, z. B. Holzleisten, bekleidet. In dieser Form ist er für eine Aufstellung im Gärkeller selbst eingerichtet. Darauf folgt die Beschreibung der Konstruktion, welche er haben soll, wenn er in einem oberirdischen Raume oder überhaupt unter Verhältnissen, wo es nötig ist, den Wärmegrad des Gärungscylinders zu regulieren, aufgestellt wird. Zuletzt wird eine Anweisung für den Gebrauch desselben gegeben.

Wie Fig. 8 uns zeigt, bilden den Apparat drei Hauptteile und die sie verbindenden Leitungsrohre, nämlich: 1. die Abteilung für das Lüften, aus der Luftpumpe (*A*) und Luftbehälter (*B*) bestehend; 2. der Gärungscylinder (*C*) und 3. der Würzecylinder (*D*).

Die Pumpe (*A*) wird mit Maschinenkraft getrieben und nimmt die Luft durch einen Vorfilter auf, damit eine vorläufige Reinigung stattfinden kann. Der Luftbehälter (*B*) ist mit einem Manometer und einem Sicherheitsventil versehen. Er wird mit Luft bis zu einer Spannung von 1—4 Atm. gefüllt. Die Leitungsrohre müssen an passenden Stellen mit Hähnen zur Abzapfung des Wassers, welches sich in diesen gesammelt hat, versehen werden. Besonders wichtig ist es, dafs dies an dem Leitungsrohre zwischen Luftbehälter (*B*) und Filter (*g* und *m*) stattfindet. Diese werden am besten mit den Luftleitungsrohren durch Metallrohre verbunden. Wenn man Kautschukschläuche hierzu anzuwenden wünscht, müssen sie sehr stark sein, um den Druck aushalten zu können. Werden Metallrohre angewendet, müssen sie natürlicherweise einige Spannkraft besitzen und überhaupt so eingerichtet sein,

dafs die Filter mit hinreichender Leichtigkeit auf ihrer Stelle angebracht und wieder entfernt werden können.

An der Seite des Gärungscylinders (*C*) befinden sich zwei zu einander schräg gegenüber sitzende Fenster (*a*). Ich habe diese Fenster angebracht, weil einzelne Praktiker Wert darauf legen. In der Figur sind sie rectangulär; neue Versuche zeigen aber darauf hin, dafs man sie am besten kreisrund mache. Meine eigene Erfahrung ergibt indessen, dafs man sie am besten weglasse. Durch den genau aufgeschraubten

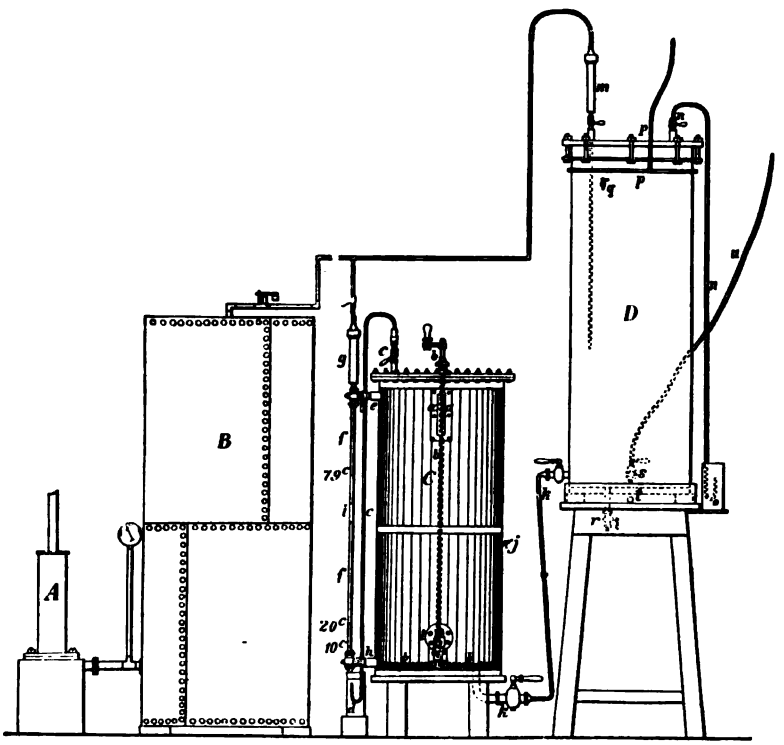


Fig. 8.

Deckel geht ein Rührapparat (*b*), welcher an seinem unteren Ende mit zwei Schraubenblättern versehen ist, von welchen das eine ein Kautschukblatt trägt, welches in solcher Art zugeschnitten ist, dafs sowohl der Boden als die Wand des Cylinders davon berührt wird, wenn eine Umdrehung stattfindet. Der im Cylinder sich befindende Teil des Rührapparates ist mittels einer dunkleren Farbe wiedergegeben. Vom Deckel geht ein zweimal gebogenes Rohr (*c*) aus, welches, wenn dessen Hahn geöffnet wird, mit dem Innern des Cylinders in Verbindung gebracht wird. Der untere freie Teil ist in ein Gefäfs mit Wasser (*d*) versenkt. Dieses Rohr kann zu der Seite des Cylinders, wo es für die Aufstellung

in der Fabrik am bequemsten ist, angebracht werden. Man mufs natürlicherweise unter allen Umständen dafür sorgen, dafs das Wasser nicht in dasjenige Gefäfs, welches während der später beschriebenen Abzapfung unter den Hahn (*l*) gesetzt wird, hineinspritzen kann. Ein wenig unterhalb des Deckels geht ein horizontales Rohr aus (*e*), an welchem sich ein Hahn befindet, vermittelst dessen das Innere des Cylinders mit dem senkrechten Glasrohre (*f*) in Verbindung treten kann. Dieses ist oben mit dem Filter (*g*) und unten ebenfalls mit einem Hahne und einem ähnlichen horizontalen Rohre (*h*) wie das oben erwähnte verbunden.

Das oberste Zeichen am Glasrohre bezeichnet eine Entfernung von 79 cm vom Boden des Cylinders, das nächste eine von 20 und das darunter folgende eine von 10 cm. Wenn der Cylinder bis zum obersten Zeichen gefüllt wird, hat er ca. 170 l empfangen. Das Glasrohr ist mit den Hähnen *e* und *h* mittels eines Packens aus Hanf oder Baumwolle mit Vaseline verbunden; Kautschuk eignet sich nicht dazu, weil es durch Dämpfe hart wird.

Das Filter (*g*) besteht aus einer Metallkapsel, die eine festgepackte Säule aus Baumwolle, 22 cm lang und 3 cm im Durchmesser, einschliefst.

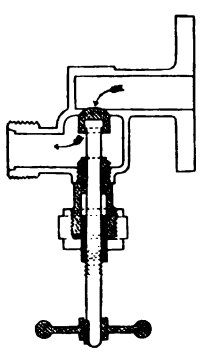


Fig. 9.

Es werden mindestens 35 g Baumwolle hineingeprefst; ob man noch einige Gramm dazu fügt, hat keine Bedeutung. Wenn man die Masse stark prefst, können 50 g und noch mehr darin sein; soviel ist indes nicht notwendig. Das Filter wird oben mittels eines aufgeschraubten Deckels geschlossen, welcher in Verbindung mit dem Leitungsrohre des Luftbehälters gesetzt ist. Ehe man das Filter aufschraubt, wird es durch ein zweistündiges Erhitzen in einem Trockenschranke bei ca. 150° C. sterilisiert. Das Filtrieren wird übrigens im folgenden besprochen werden.

Auf der entgegengesetzten Seite des Cylinders sieht man ein kleines, kaum 1½ cm langes Rohr (*j*), welches einen Kautschukschlauch trägt, der mit einem Quetschhahn und einem Glasstöpsel verschlossen ist. Vom Boden des Cylinders geht ein Rohr (*k*) aus, wodurch die Verbindung mit dem Würzecylinder (*D*) stattfinden kann; dieses Rohr ist der Beweglichkeit halber aus zwei Stücken zusammengesetzt, und aufser den zwei abgebildeten grofsen Hähnen hat es zugleich zwei kleinere, welche während des später beschriebenen Dämpfens angewendet werden können, teils zur Abzapfung des verdichteten Dampfes, teils zum Einführen der gespannten Wasserdämpfe.

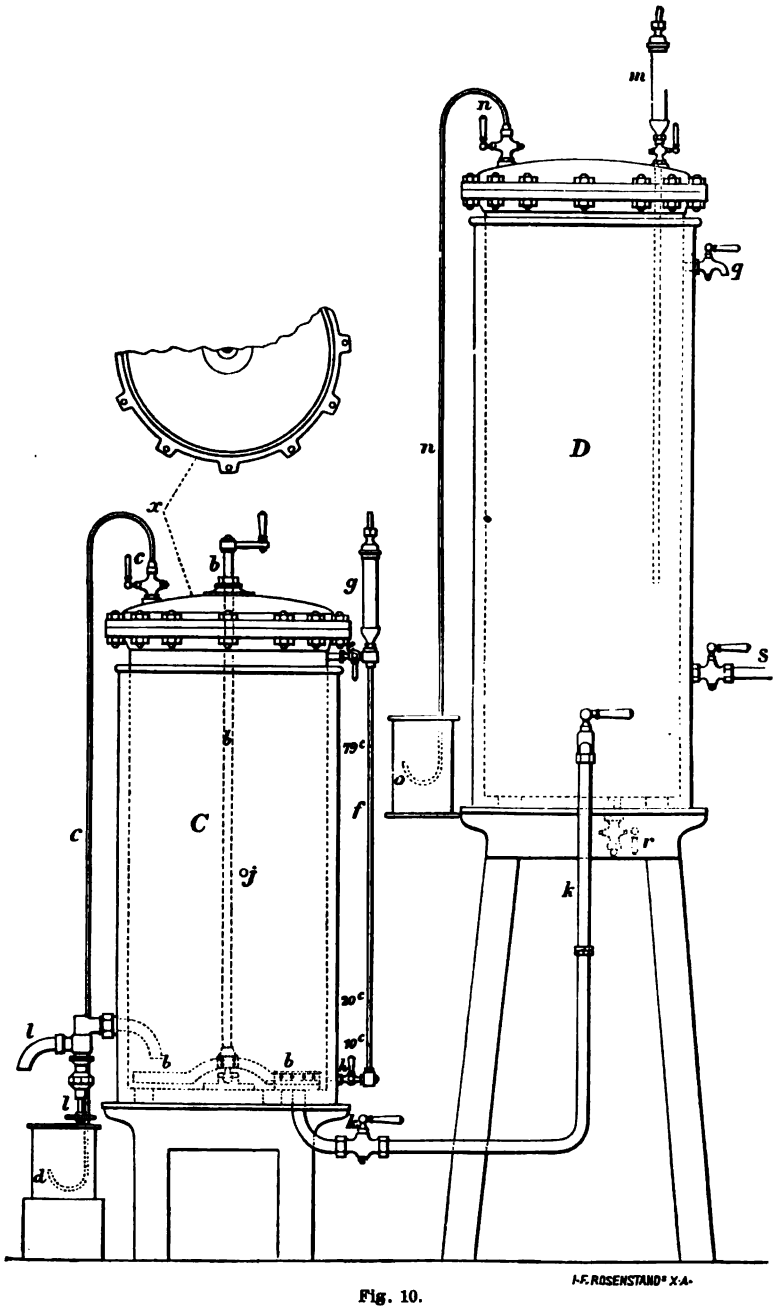


Fig. 10.

Der in der Mittellinie der Zeichnung unten abgebildete Hahn (*l*) dient zur Abzapfung des Bieres und der Hefe. Die Konstruktion dieses Hahnes ist in Fig. 9 dargestellt. Die Pfeile geben die Richtung

an, in welcher die Flüssigkeit strömt, wenn geöffnet wird. Das Kegelventil wird dann nach unten und, wenn geschlossen werden soll, nach oben geschraubt. Er ist im geschlossenen Zustande dargestellt. Wie die Konstruktion ist, wird einer Infektion von aufsen während des Abzapfens vorgebeugt, weil nämlich die Flüssigkeit des Cylinders selbst den Hahn reinigt. Das Rohr des Hahnes setzt sich innerhalb der Wand des Cylinders fort und biegt sich nach unten gegen den Boden; seine Mündung befindet sich in einer Entfernung von $3^1/_2$ cm von diesem (siehe Fig. 10, *C, l*). Er ist, kurz gesagt, so eingerichtet, dafs während des Abzapfens keine Luft von aufsen in den Cylinder hineindringen kann.

Wenn der Cylinder im Gärkeller selbst aufgestellt wird, kann man, wie früher bemerkt, ihn mit Holzleisten bekleiden; diese sind in Fig. 8 *C* angedeutet. Von dem Cylinder mit Wasserkappe wird später die Rede sein.

Der Würzecylinder (*D*) mufs, wie aus der Fig. 8 ersichtlich ist, etwas höher als der Gärungscylinder angebracht werden. (Wenn man es wünscht, kann man selbstverständlich die Würze auch mittels komprimierter Luft überführen; in diesem Falle mufs aber der Würzecylinder mit Sicherheitsventil versehen werden.) Er ist auch selbst höher als dieser; sein Durchmesser ist dagegen derselbe. Der Deckel trägt ein Filter (*m*), ganz wie *g* eingerichtet, welches in den Cylinder hinein mittels eines Rohres (mit punktierten Linien angedeutet) sich fortsetzt. Dieses Rohr ist an seinem untern geschlossenen Ende mit einigen kleinen Löchern versehen, durch welche die vom Filter herabströmende Luft austreten kann. Das zweimal gebogene Rohr (*n*) entspricht dem Rohre (*c*) des ersten Cylinders und mündet wie dieses in ein Gefäfs mit Wasser (*o*). Was den Würzecylinder betrifft, so ist es sehr wichtig, dafs die Öffnungen des Rohres (*n*) und des entsprechenden Hahnes nicht so klein sind, dafs Hopfenblätter oder andere derartige Dinge dieselben verstopfen können; ein passender Diameter der Öffnung des Rohres ist $1^1/_8$ cm. Oben ist dieser Cylinder in einer ziemlich geringen Entfernung vom Deckel mit einem ringförmigen Rohre (*p*) umgeben, dessen einwärts gekehrter Teil mit kleinen Löchern versehen ist. Es ist an dem einen Ende verschlossen, an dem andern dagegen mit einer Kaltwasserleitung in offener Verbindung. Aufser den Hähnen am Verbindungsrohre (*k*) zwischen den zwei Cylindern hat der Würzecylinder noch andere drei (*q, r, s*). Der Hahn (*s*) steht mit der Würzeleitung (*u*) in Verbindung, diese mündet in der Hauptleitung, welche sich zwischen dem Würzekessel und den Kühlschiffen der Brauerei befindet, aus. Der Cylinder steht in einer flachen Schale, die mit einem Ablaufrohre (*t*) für das Wasser versehen ist, welches

während der Abkühlung an den Wänden des Cylinders hinabströmt. Die punktierten Linien bei *t* zeigen teils einige Bügel an, auf welchen der Cylinder ruht, teils die untere ringförmige Partie desselben und dessen darüber sich befindenden Boden.

Als der Apparat am Jahresanfange 1886 in Neu-Carlsberg aufgestellt werden sollte, wurden an dem Gärungscylinder, weil er seinen Platz in einem überirdischen Zimmer bekam, wo er merkbaren Temperaturschwankungen und namentlich während des Sommers einem zu hohen Wärmegrad ausgesetzt war, einige Abänderungen vorgenommen. Diese wurden auf eine sehr schöne und praktische Weise von Herrn Oberinspektor Henningsen durchgeführt. Die Hauptaufgabe war, den Gärungscylinder so einzurichten, dafs man die Temperatur der darin sich befindenden Flüssigkeit immer beherrschen konnte und namentlich im stande war, eine Abkühlung zu bewirken. Hierzu dient die Umhüllung, welche in Fig. 10, *C* abgebildet ist. Diese umgibt nicht nur die Wände des Cylinders, sondern auch dessen Boden, und der Reinigung halber ist sie mit einem Boden versehen, welcher ziemlich leicht abgeschraubt werden kann. In diesem Falle mufs man eine beutelförmige Einsenkung durch den Mantel hinein in dem Cylinder selbst für ein Thermometer anbringen. Die Enveloppe hat unten einen Hahn zum Einleiten des Kühlwassers und auf der entgegengesetzten Seite oben ein Ablaufsrohr; ein dritter Hahn unten dient zur Reinigung des Bodensatzes, welcher sich aus dem Wasser nach und nach abgesetzt hat.

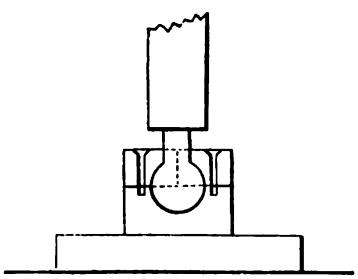


Fig. 11.

Der Würzecylinder (Fig. 10, *D*) ist auch hier mit einem Mantel versehen, welcher aber sehr gut entbehrt werden kann, weil der Überrieselungsring (Fig. 8, *p*) vollkommen Genüge leistet. Es ist indessen viel angenehmer, mit dem Mantel zu arbeiten, weil dieser nämlich einen Schirm für das vom Ringe strömende Kühlwasser bildet, so dafs man nicht davon benetzt wird. Ein Cylinder mit Mantel ist aber bedeutend kostspieliger und nicht so leicht zu handhaben.

Fig. 10, *C*, *x* zeigt uns aufserdem eine bessere, deshalb aber auch etwas kostspieligere Konstruktion des Deckels, als die in Fig. 8 dargestellte.

Die Mitte ist aus Kupfer verfertigt und mit einer daran gelöteten Messingflansche versehen, die mit zwölf Lappen hervorspringt; durch diese gehen Bolzen, die mit Schraubenhülsen versehen sind. Zwischen dem Deckel und dem Kragen des Cylinders wird in einer

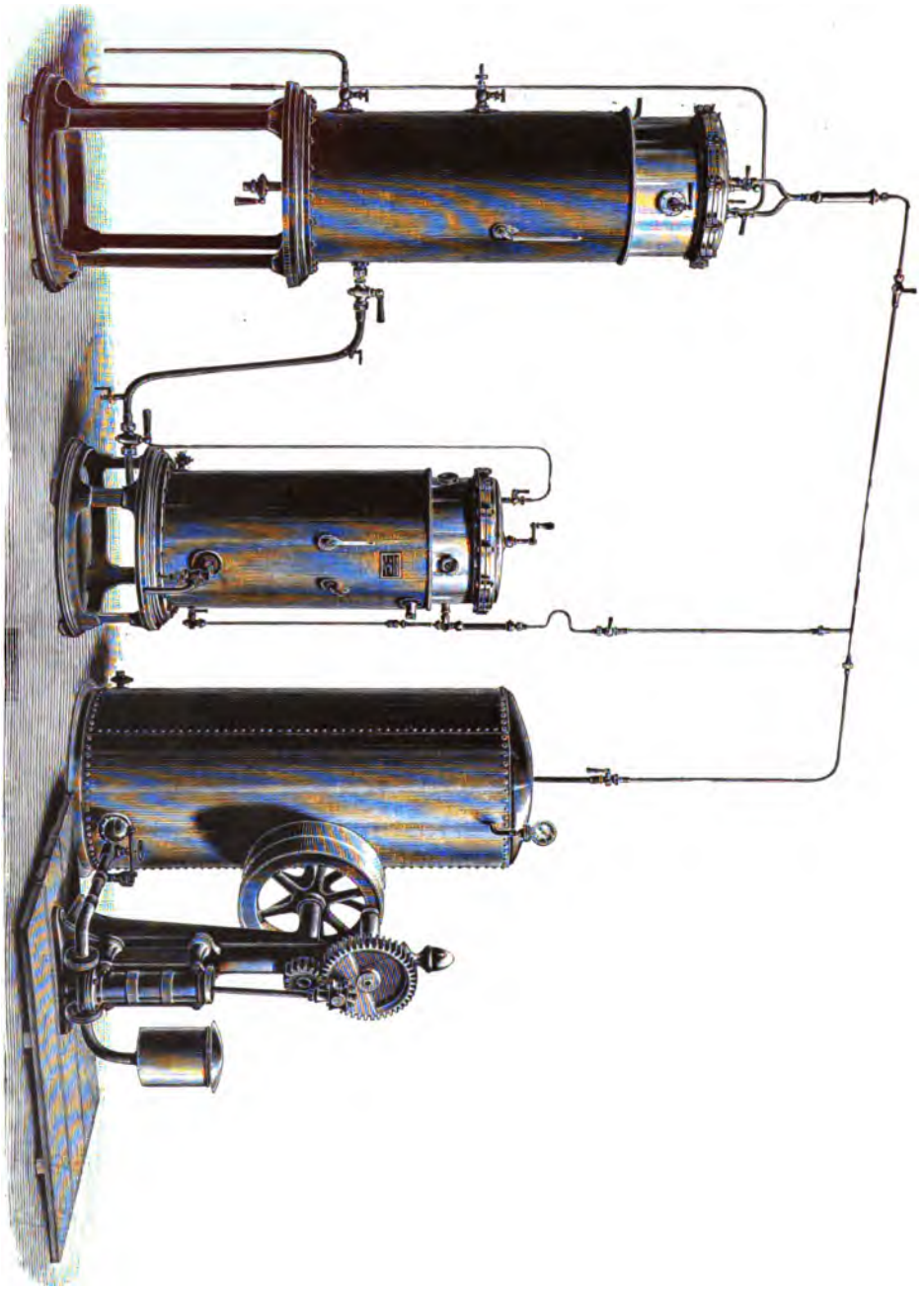


Fig. 12.

dazu eingerichteten Furche ein abgepafster Kautschukring angebracht. Man ist dadurch im stande, den Deckel vollständig luftdicht mit dem Cylinder zu verbinden.

Die in Fig. 10 angegebenen Buchstaben haben übrigens dieselbe Bedeutung wie in Fig. 8, und die Erklärung darüber findet sich deshalb oben.

Die Einrichtung des Rührapparates (*b*) sieht man deutlicher in Fig. 10 als in Fig. 8. Um zu verhindern, dafs er während des Gebrauches aus seinem Zapfenlager am Boden des Cylinders gehoben wird, ist dies ein Kugellager. Die Achse endet, wie Fig. 11 zeigt, mit einer Kugel, welche in einer halbkugelförmigen Vertiefung in der festen Unterlage ruht. Durch zwei Bolzen werden zwei Stücke, die genau zu der Kugel passen, festgemacht; die Achse kann sich herumdrehen, aber nicht aus ihrem Lager kommen. Siehe übrigens die vorangehende Beschreibung.

Die Fig. 12 zeigt die Aufstellung des ganzen Apparates in der Gestalt, in welcher er im Augenblicke gewöhnlich dargestellt wird.

Rücksichtlich der Verzinnung des Cylinders mufs hervorgehoben werden, dafs das Zinn keinen erheblichen Bleigehalt enthalten darf. Falls man dies nicht berücksichtigt, wird man nämlich, Priors Untersuchungen zufolge, eine schlechte Hefe ernten.

Eine aufmerksame Betrachtung unseres Apparates zeigt, dafs er nach denselben Modellen konstruiert ist, wie die Kolben, die in den Laboratorien zu Experimenten mit Mikroorganismen angewendet werden, und dafs namentlich Pasteurs zweihalsige Kolben als Muster gedient haben. Die Prinzipien für die Sterilisation, sowie für die dazu gehörenden Apparate sind schon von den Vorgängern Pasteurs gegeben, namentlich sind die Entdeckungen Schwanns (1837) in dieser Beziehung grundlegend. Es sind Entdeckungen, welche vor meiner Geburt gemacht worden sind, folglich kann ich in dieser Hinsicht keine Prioritätsansprüche haben und habe auch niemals daran gedacht. Die kleinen Angriffe, welche rücksichtlich dieser Frage in der »Berliner Wochenschrift« gegen mich gerichtet wurden, sind folglich ganz ohne Grund. (Siehe übrigens die geschichtliche Darstellung, 2. Heft: »Wie die Lehre von Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten sich nach und nach entwickelt hat«.)

Wenn man den Apparat aufstellt, soll man vor allen Dingen darauf achten, dals er an Ort und Stelle ungestört bleiben kann. Wenn es möglich ist, wird es gewifs im allgemeinen am praktischsten sein, den Apparat im Gärkeller selbst anzubringen. Man braucht dann in der Regel sich keine Mühe zu geben, die Temperatur zu regulieren, und bei der Entnahme der Hefe und des Bieres etc. wird unter diesen Umständen eine verhältnismäfsig geringere Arbeitskraft in Anspruch genommen, weil die Leute in der Zwischenzeit andere Arbeiten in der Nähe ausführen können. Falls die Temperatur im Gärkeller unter 6° C.

beträgt, ist es zu empfehlen, einen Mantel um den Gärungscylinder zu haben. Beim Aufstellen mufs man natürlicherweise von Anfang an darauf Rücksicht nehmen, ob man einen oder zwei Gärungscylinder zu benutzen beabsichtige; unter allen Umständen genügt ein einziger Würzecylinder.

Ist der Apparat aufgestellt worden, so mufs man erstens untersuchen, inwieweit die Cylinder dicht sind. Dies geschieht dadurch, dafs man mit Vorsicht Dampf durch die Leitung (*k*) leitet und dann die anderen Hähne schliefst; auch mittels Wasserdruck kann man diese Probe machen. Dafs man immer mit einer gewissen Vorsicht, besonders im Anfange, arbeiten mufs, ist selbstverständlich Eine Hauptbedingung ist diese, dafs derjenige, welcher den Apparat bedienen soll, sich im voraus mit der Einrichtung und Anwendung desselben vertraut gemacht hat. Die ersten Proben werden am besten mit Wasser gemacht. Als Regel mufs gelten, dafs nur ein einziger Mann das Ganze leitet. Die Erfahrung hat mir gezeigt, dafs dies besonders im Anfange oft vergessen wurde; wenn aber mehrere kommandieren wollen, so geht nichts zusammen.

Ehe der Apparat in Gang gesetzt wird, mufs man sowohl die zwei Cylinder wie die diese verbindende Leitung, sowie auch die Leitung, durch welche die Würze dem Würzecylinder zugeführt wird, vollständig sterilisieren. Dies geschieht durch starkes Ausblasen mit Dampf. Die Filter werden, wie schon früher angegeben wurde, in einem Trockenkasten sterilisiert. Die Sterilisierung des Gärungscylinders geschieht dadurch, dafs die Dampfleitung in Verbindung mit einem der Hähne der Leitung (*k*) gesetzt wird (die Buchstaben beziehen sich auf Fig. 8 und 10). Während die stark gespannten Wasserdämpfe eindringen, werden dann und wann die verschiedenen Hähne geöffnet, damit die Ausströmung nicht nur durch das doppelt gebogene Rohr (*c*), sondern auch durch diese Hähne vor sich geht. Dies dauert eine halbe Stunde. Kurz zuvor wird das Filter angebracht, und dann werden alle Hähne geschlossen, mit Ausnahme desjenigen, welcher dem doppelt gebogenen Rohre angehört. Gleichzeitig wird der Hahn am Filter geöffnet, damit die Luft durch das Filter (*g*) und die Leitung (*h*) in den Cylinder einströmt. Dieser wird teils hierbei und teils dadurch, dafs man die Dampfzufuhr nach und nach vermindert, abgekühlt. Die Abkühlung wird, kurz gesagt, so ausgeführt, dafs Luft mit Dampf gemischt durch das doppelt gebogene Rohr (*c*) streicht. So lange ein deutlicher Dampfstrom herausströmt und dadurch leicht wahrgenommen wird, dafs die Luftbewegung aus dem Apparate hinaus stattfindet und nicht in umgekehrter Richtung, braucht man das Gefäfs (*d*) mit Wasser nicht; erst in einem späteren Zeitpunkte ist es als Indikator notwendig.

Falls man plötzlich den Dampf abschliefsen wollte, liefe man Gefahr, dafs das Filter nicht eine so grofse Luftmenge zuführen könnte, wie sie notwendig ist, um zu verhindern, dafs eine starke Luftverdünnung durch die Abkühlung entstände, und in diesem Falle würde die Folge die sein, dafs entweder der Cylinder unreine Luft in sich anziehen, oder dafs er durch den Druck der äufseren Luft zerdrückt würde. Die Abkühlung dauert unter diesen Verhältnissen bei gewöhnlicher Gärkellertemperatur ca. zwei Stunden. Ist der Cylinder mit Fenstern versehen, dürfen diese natürlicherweise nicht während des Dämpfens fest angeschraubt werden, weil sie in diesem Falle zerspringen würden. Wenn das Ausblasen nahezu beendet ist, schraubt man sie vorsichtig nach und nach fester zu.

In betreff des Wasserverschlusses bei den doppelt gebogenen Rohren (*d* und *o*) kann hier ein für allemal bemerkt werden, dafs er nur zu dem Zwecke vorhanden ist, die Richtung der Luftbewegung anzugeben.

Der Würzecylinder und dessen zwei Leitungen (*s u* und *k*) werden auf gleiche Weise sterilisiert, der Akühlungsprozefs fällt hier jedoch weg. Wenn man mit dem Ausblasen nahezu fertig ist, öffnet man den Hahn am Luftfilter und leitet die Würze hinein. Die Würze, welche benutzt wird, ist die gewöhnliche gehopfte Würze, welche zum Lagerbier gebraucht wird, sie ist durch Kochen im Sudhause sterilisiert worden und strömt so heifs wie möglich durch die Leitung (*u*) und deren Hahn (*s*) in den Cylinder. (In Fig. 8 ist die Leitung (*u*) angedeutet, in Fig. 10 dagegen nicht; sie ist in der letztgenannten Abbildung als eine Fortsetzung des Hahnes *s* zu betrachten.) Kurze Zeit vor Beendigung des Ausblasens beginnt man, die kochende Würze auf die Kühlschiffe zu pumpen, und zehn Minuten später öffnet man den Hahn (*s*). Man läfst die Würze einströmen, bis sie den oberen Hahn (*q*) erreicht hat, dann wird der Hahn (*s*) geschlossen. Es ist zu empfehlen, einen kleinen Eimer unter dem Hahn (*q*) anzubringen, um die Würze, welche von diesem kommt, aufzufangen. Wenn die Würze in diesen zu fliefsen beginnt, weifs man, dafs das gewünschte Mafs im Cylinder ist. Die in diesem vorhandenen heifsen Dämpfe und die Luft werden teils durch *q*, teils durch das doppelt gebogene Rohr (*n*) ausgetrieben. Es ist zu empfehlen, durch den untern Hahn (*r*) die erste kleine Portion Würze, welche hineinfliefst, abzuzapfen, weil sie mit verdichtetem Wasserdampf stark gemengt ist und dadurch einen üblen Geschmack gibt. Wenn die gewünschte Menge Würze im Cylinder ist, werden die Hähne (*q* und *s*) geschlossen. Durch das Filter läfst man nun die sterile Luft in die heifse Würze während einer Stunde hineinströmen, ehe man die eigentliche Abkühlung beginnt, aber auch während dieser

wird die Lüftung immer und immer fortgesetzt. Gewöhnlich genügt es, einenDruck von 1—2 Atm. im Luftbehälter zu haben. Man wünscht nur im Cylinder immer einen kleinen Überdruck durch sterile Luft zu bekommen. Hierdurch erhält man die Gewifsheit, dafs keine unreine Luft angesaugt wird, und dafs die Würze eine passende Menge Sauerstoff aufnimmt. Es ist selbstverständlich, dafs man nicht, wie es einmal in einer Brauerei geschah, vergessen darf, erst den Hahn bei *n* zu öffnen. Geschieht dies nicht, so können die Apparate Schaden erleiden.

Sobald die eigentliche Abkühlung beginnen soll, wird der Überrieselungsring (*p*) in Verbindung mit einer Wasserleitung gesetzt. Man überrieselt auf diese Weise die Wand des Cylinders, bis die Temperatur der Würze dadurch ungefähr bis auf 10° C. gebracht ist, welches in einem gewöhnlichen Gärkeller eine Stunde zu dauern pflegt. Die weitere Abkühlung mufs durch Eiswasser ausgeführt werden. Die Luft hat indessen unaufhörlich, sowohl durch die Flüssigkeit als durch das doppelt gebogene Rohr ihre Blasen getrieben, und durch letzteres zugleich eine Portion Würze mit sich geführt; es wälzt sich daher eine recht bedeutende Menge Schaum hervor, was jedoch nie zu einer Infektion Veranlassung gab. Eine zu starke Lüftung mufs jedoch vermieden werden, um nicht eine so grofse Menge Würze zu verlieren, dafs das noch bleibende Quantum nicht genügt. Erst nachdem die Würze bis zu ca. 11° C. abgekühlt ist, drängt sich der Schaum durch das Rohr. Weniger wird man davon beschwert werden, wenn man warmes Wasser im Gefäfse (*o*) anbringt. Die auf diese Weise zur Gärung vorbereitete Würze wird dann durch die Leitung (*k*) in den Gärungscylinder übergeführt.

Um die Flüssigkeit durch das Lüften nicht, in Bewegung zu bringen, während sie in den Gärungscylinder hineinströmt, könnte man das Filter mit einem gabelförmigen Rohr verbinden, dessen einer Ast von dem früher beschriebenen Lüftungsrohre fortgesetzt wird, während der andere nur den Deckel des Cylinders durchbohrt, also ohne in Berührung mit der Flüssigkeit selbst zu kommen; durch Hähne wären dann diese zwei Äste so einzurichten, dafs jeder für den Luftstrom sowohl geöffnet als geschlossen werden könnte. Die während des Abfliefsens der Würze notwendige Luftzufuhr müfste in diesem Falle natürlicherweise ausschliefslich durch den letztgenannten Ast stattfinden. Eine wesentliche Bedeutung hat diese Änderung jedoch nicht; man wird sie an einigen der von Herrn W. E. Jensen verfertigten Cylinder (Fig. 12), an anderen dagegen nicht finden.

Wenn man wünscht, dafs sich in der Würze erst ein gröfserer Bodensatz bilden soll, so kann man sie eine Stunde stehen lassen. Um

sich gegen Ansaugen unreiner Luft zu sichern, darf man indes das Filter nicht vollständig schliefsen, sondern schränkt nur die Luftzuströmung ein. Der genannte Bodensatz verursacht übrigens keinen Schaden in dem Gärungscylinder, und man kann deshalb sehr gut die Würze überführen, sobald sie abgekühlt ist. Zu dieser Zeit ist auch ein recht bedeutender Bodensatz gebildet worden, und weil die Mündung der Leitung (*k*) sich in einer ziemlichen Entfernung über dem Boden des Würzecylinders befindet, wird nur ein kleiner Teil dieses Bodensatzes mitgeführt werden.

Die erste Zufuhr der Würze darf nicht höher als bis zu der Stelle reichen, wo das kleine Rohr (*j*) sich befindet; durch dieses wird nämlich die Hefe eingeführt. Sie wurde vorher in einigen grofsen zweihalsigen Glaskolben gesammelt, und man arbeitet mittels einer Spirituslampe, wenn eine Gaslampe nicht vorhanden ist. Über die Zubereitung der Hefe und deren Überführung in den Cylinder siehe übrigens im folgenden.

Der Rührapparat wird dann in Gang gesetzt, damit die Hefe mit der Würze gut gemengt werde. Sobald dieses beendet ist, wird der noch fehlende Teil der Würze zugesetzt, indem man bis zur oberen Marke am Glasrohre (*f*) (ca. 170 l) auffüllt. Die in diesem Rohre stehende Flüssigkeitssäule wird durch Druck der Luft, welche durch das Filter geht, in den Cylinder hineingetrieben, indem man erst den Hahn am oberen, horizontalen Rohre (*e*) schliefst und den Hahn am Rohre (*h*) öffnet. Wenn man die Lüftung nicht während der Gärung fortsetzen will, wird natürlicherweise auch der letztgenannte Hahn geschlossen, jedoch erst nachdem man zuvor das Leitungsrohr zum Filter geschlossen hat.

Nach ungefähr zehn Tagen kann der erwünschte Teil der neu erzeugten Hefe entnommen werden. Bei dieser Angabe ist angenommen, dafs der Cylinder der gewöhnlichen Gärkellertemperatur ausgesetzt ist; wenn die Temperatur höher ist, wird die Hefe natürlicherweise nach kürzerer Zeit entnommen werden können. Durch den Hahn (*l*) wird das Bier abgezapft, und wenn etwas Schaum auszufliefsen beginnt, wird derselbe geschlossen. Vom Würzecylinder, dessen Würze zu dieser Zeit für die neue Gärung fertig sein mufs, wird etwas Flüssigkeit bis zu dem nächst untersten Markstriche am Glasrohre (*f*) übergeführt. Mit dem Rührapparate wird die Hefe gut aufgerührt, und diese Mischung von Hefe und Würze dann in einer vollständig reinen (das heifst mit Wafser gut gereinigten und dann ausgedampften) Wanne abgezapft. Mit dem Abfüllen hört man auf, wenn die Flüssigkeit bis zu dem untersten Markstriche am Glasrohre gesunken ist, worauf wieder mit Würze bis zu der nächstuntersten Marke aufgefüllt wird.

Nach gehörigem Umrühren wird wieder dünnflüssige Hefe, bis der unterste Markstrich des Rohres erreicht ist, abgezapft; man hat dann im ganzen ca. 50 l herausgenommen. Der zurückbleibende Teil ist hinreichend, um wieder eine neue Zucht wie die frühere zu bewerkstelligen.

Es ist zweckmäfsig, in der Wanne, in welche die Hefemischung abgezapft wird, zwei verschiedene Marken zu haben, von welchen die eine 25, die andere 50 l anzeigt. Auf eine grofse Genauigkeit kommt es hierbei nicht an.

Mit der herausgenommenen Hefe, welche Stellhefe für 8 hl Würze gibt, wird so schnell wie möglich eine neue Gärung in einem gewöhnlichen, gut gereinigten Bottich in Gang gesetzt. Wenn dies nicht gleich geschehen kann, mufs man die Hefewanne zudecken und an einen kühlen und reinlichen Ort stellen.

Während des Abzapfens sowohl der Würze als des Bieres aus den zwei Cylindern mufs man natürlicherweise genau dafür sorgen, dafs eine passende Luftmenge unaufhörlich durch die Filter strömen kann. Die betreffende Flüssigkeit würde sonst nur schwierig herausfliefsen, und äufsere Luft angesaugt werden. Sobald das Abzapfen aus dem Gärungscylinder fertig ist, wird Würze bis zu dem obersten Markstriche des Glasrohres hineingefüllt, man rührt auf, und die neue Zucht ist hiermit in Gang gebracht.

In der oben stehenden Beschreibung habe ich die Verhältnisse in Alt- und Neu-Carlsberg vor Augen gehabt. In diesen beiden Brauereien läfst man, wie gesagt, die Gärung bis zum Ende der Hauptgärung fortschreiten und nimmt alsdann die gewünschte Stellhefe als Bodensatzhefe heraus. Es folgt aber von selbst, dafs man auch den Apparat in der Weise benutzen kann, dafs man eine Portion gärende Würze herausnimmt, sobald die Hefezellen sich hinlänglich vermehrt haben (unter den angegebenen Umständen ungefähr nach 40 Stunden). Diese Vermehrungsweise ist eine schnellere als die erst beschriebene, und sie wird auch in einigen Brauereien mit Erfolg angewendet. Ob man mit Bodensatzhefe oder mit gärender Würze arbeiten soll, mufs nach den lokalen Verhältnissen, sowie nach der Natur der betreffenden Hefe bestimmt werden.[1])

[1]) Herr Jos. Peska teilte mir gefälligst mit, zur Zeit, während er noch technischer Direktor der Foster Comp. Untergärungsbrauerei in Melbourne war, dafs die Reinzucht ihm längere Zeit hindurch verschiedene Schwierigkeiten bereitete, bis er darauf kam, die Hefe sehr alt werden zu lassen; er nahm nur Hefe einmal monatlich von dem Gärungscylinder aus. Hierdurch wurden alle die früheren Schwierigkeiten beseitigt, und er erhielt sehr schöne Gärungen.

Die Mündungen der beiden Hähne (*l* und *k*) werden gleich von der Bier- und Würzeflüssigkeit, welche sich darin befindet, sorgfältig gereinigt, sonst würde nämlich eine Vegetation von Bakterien, Hefe- und Schimmelpilzen sich da entwickeln können. Man verwendet hierzu am besten einen Dampfschlauch, indem man an dem Ende desselben ein rohrförmiges Mundstück befestigt und ihn dann wie eine Spritze benutzt. Das warme Wasser, welches erst durch den Schlauch hervorkommt, wenn man den Dampfhahn öffnet, wird zum Ausspülen gebraucht; die Sterilisierung wird mit den später hervordringenden, gespannten Dämpfen ausgeführt. Wenn diese beendet ist, werden die respektiven Mündungen geschlossen, indem wohlgereinigte Metalldeckel aufgeschraubt werden.

Während der Gärung verhindert die sich bildende Kohlensäure ein Einsaugen der Luft, und man braucht folglich deshalb gar nicht zu lüften; die Gärung und Zellenbildung findet auch in erforderlicher Weise statt ohne Lüftung. Wünscht man indessen eine Lüftung anzuwenden, um auf den Gang der Gärung einwirken zu können, so wird in der Regel nur davon die Rede sein können, kleine Luftmengen durch die Flüssigkeit passieren zu lassen. Die Zuströmung wird dann auf eine solche Weise mittels des Hahns über dem Filter reguliert, dafs in Zwischenräumen von ein paar Minuten ein wenig Luft durch das doppelt gebogene Rohr und durch das Wasser (*d*) hervortritt. Man wird auch in diesem Falle, indem man das Ohr dicht an den Cylinder legt, ein ganz langsames, stofsweise wiederkehrendes Aufsteigen der Blasen durch die Würze hören können. Wenn der Cylinder eine Umhüllung hat, kann man den Luftstrom nur mittels des Wasserindikators beobachten; dafs man auch über der gärenden Würze durch das Rohr (*e*) lüften kann, ist selbstverständlich. Über den Einfluſs der Lüftung können wir leider noch nicht allgemein gültige Regeln für die Praxis aufstellen.

Durch die früher erwähnten Fenster (*a*) ist man im stande, in den Cylinder hineinzusehen und die Oberfläche der Flüssigkeit zu beobachten. Man kriegt aber auf diese Weise keine genügenden Aufschlüsse, und weil diese Fenster während des Ausblasens leicht zerspringen und überhaupt eine Quelle für undichten Verschluſs darbieten, werden sie besser weggelassen. Die Einrichtung des Apparates gestattet auch, sehr leicht Kontrollproben entnehmen zu können; gröfsere Proben durch den Hahn (*l*), kleine durch das Rohr (*j*). Die Erfahrung lehrt uns übrigens schnell, wie die Gärung zu den verschiedenen Zeiten vor sich geht, und man kann dann immer ohne vorhergehende Untersuchung mit hinlänglicher Genauigkeit wissen, wenn der Zeitpunkt, die Hefe abzuziehen, gekommen ist. Hier muſs

auch daran erinnert werden, dafs die Aufgabe nur diese ist, Stellhefe zu züchten und nicht Bier von einer bestimmten Beschaffenheit zu produzieren. Dafs dieses Bier nicht verloren geht, sondern in den Lagerkeller zu dem andern Biere der Brauerei gebracht wird, ergibt sich von selbst.

Als Kapitän Kühle und ich den Propagierungsapparat in die Brauerei Alt-Carlsberg einführten, haben wir uns gleich die Frage gestellt, ob das Bier und die Hefe nach und nach während des langen Gebrauches des Gärungscylinders möglicherweise Bitterstoff aufnehmen würden, weil ja in solchem Falle eine häufigere Reinigung notwendig wäre. Es zeigte sich jedoch, dafs dies nicht der Fall war, und eine mehrjährige Praxis hat aufserdem dieses Resultat völlig bestätigt. In Alt-Carlsberg wird ein ganzes Jahr hindurch derselbe Gärungscylinder angewendet. Der ganze Apparat wird gereinigt, ehe er aufs neue in Gang gesetzt wird. Dies hebe ich mit Rücksicht auf die unrichtigen Auffassungen hervor, die in einzelnen Brauereien sich geltend gemacht haben, nämlich dafs man am besten sehr häufig den Gärungscylinder reinigen mufs; dies ist ein vollständiges Mifsverständnis. Es wird sogar dafür nichts im Wege sein, dafs man den Gärungscylinder viel länger benutzen kann, als es in Alt-Carlsberg geschieht; doch scheint es mir im allgemeinen passend zu sein, eine Reinigung einmal jährlich vorzunehmen. Man kann, wenn die gehörige Vorsicht angewendet wird, die Hefe in den Würzecylinder überführen und dieselbe da so lange aufbewahren, bis der Gärungscylinder gereinigt und sterilisiert worden ist. Die Einrichtung des Apparates ist kurz so, dafs man, ohne die Reinkultur der Hefe zu stören, eine Reinigung des Cylinders vornehmen kann, zu welcher Zeit und so oft als man mag. Hat man eine Reinhefe, welche im Betriebe gut eingeschlagen hat, so soll man sie, so lange sie noch rein, d. h. frei von Infektion ist, brauchen. Es ist ein grofser Irrtum, wenn man glaubt, dafs man wenigstens einmal des Jahres eine neue Reinkultur in den Gärungscylinder einführen soll. Wenn man mit Verständnis den Reinzuchtapparat anwendet und keine besonderen Unfälle während der Arbeit mit demselben hinzutreten, wird die Hefe sich fortwährend rein halten. Auf Neu-Carlsberg hatte man zu einer Zeit in dem Gärungscylinder eine Reinkultur, welche vor mehr als fünf Jahren darin eingeführt wurde. Sobald eine Verunreinigung erscheint, mufs die Hefe natürlich erneuert werden. Die hierzu erforderliche Analyse wird der Brauer selbst in der Regel nicht im stande sein ausführen zu können, deshalb sind die Laboratorien da, welche sich jetzt eine Spezialität daraus gemacht haben.

Bei der Anwendung des Apparates sind zwei Hauptpunkte zu bemerken: 1) dafs das Ausblasen mit Dampf genügend ist,

so dafs eine wirkliche Sterilisierung stattfindet, und 2) dafs während des Abkühlens und Abzapfens sich immer ein Überdruck steriler Luft in dem betreffenden Cylinder findet. Wenn diese zwei Bedingungen erfüllt sind, kann keine Infektion, kein Einsaugen unreiner Luft stattfinden. Dafs man übrigens mit Sorgfalt arbeiten mufs, kann nicht stark genug eingeschärft werden. Wird die oben gegebene Anweisung genau und mit Verständnis befolgt, so werden Schwierigkeiten nicht eintreten. Während derjenigen Jahre, in welchen der Apparat im Gärkeller Alt-Carlsbergs in Gang gewesen ist, wurde er dann und wann einer scharfen Kontrolle unterworfen, immer zeigte es sich aber, dafs alles in Ordnung war.

Es wurde erwähnt, wie unser Apparat, als er in Neu-Carlsberg aufgestellt werden sollte, in gewissen Richtungen den lokalen Verhältnissen entsprechend geändert werden mufste. Eine andere Modifikation ist später von Dr. Elion, Vorstand des Laboratoriums in Heinekens' Brauerei, Rotterdam, vorgenommen worden; sie besteht wesentlich darin, dafs er einen Sterilisator eingefügt hat. In der obenstehenden Beschreibung haben wir angenommen, dafs die siedendheifse und deshalb sterile Würze aus der Hauptleitung der Brauerei genommen werde, ehe sie auf die Kühlschiffe gelangt. Dies ist nämlich die am meisten praktische Weise, auf welche der Würzecylinder mit steriler Würze versehen werden kann. Man wird deshalb auch selbst in solchen Brauereien, wo die Leitung zu diesem Zwecke ziemlich lang gemacht werden mufs, doch dieses Verfahren wählen, wie es z. B. in der Tuborg-Brauerei bei Kopenhagen der Fall ist. Es gibt überhaupt nicht viele Brauereien, in welchen man sich nicht auf diese Weise einrichten kann. Wenn indes die lokalen Verhältnisse es nicht erlauben, diese Angelegenheit so leicht anordnen zu können, mufs man die Würze, nachdem sie in den Cylinder gebracht worden ist, durch Kochen sterilisieren und dann, wie früher beschrieben, abkühlen und lüften; die Arbeit wird dadurch schwieriger und wird auch längere Zeit in Anspruch nehmen, unüberwindlich ist sie aber nicht. Für diesen Zweck hat Dr. Elion seinen Würzecylinder mit einem Dampfmantel umgeben. Herr W. E. Jensen, Kopenhagen, wendet dagegen ein Spiralrohr an, welches in den Würzecylinder hineingeführt wird.

Von den oben beschriebenen ziemlich verschieden ist der von Louis Marx konstruierte Reinzuchtapparat, welcher indessen so eingerichtet ist, dafs er jedesmal Hefe für nur 1 hl Würze liefern kann. Später sind mehrere andere hinzugekommen (Konstruktionen von P. Lindner, Brown und Morris, Wichmann, Thausing, der Chicagoer Versuchsstation u. a.). Velten hat schon i. J. 1878 ein Patent auf einen sogen. „générateur" genommen. Um die Luft zu reinigen, benutzt er Schwanns

Verfahren mittels Heizung, und die Konstruktion seines Apparates ist, insoweit man sie aus der mangelhaften Beschreibung erkennen kann, überhaupt keine glückliche. Sein Apparat kam auch niemals aus seiner Brauerei in Marseille heraus. Der Hauptgrund dafür liegt schon darin,

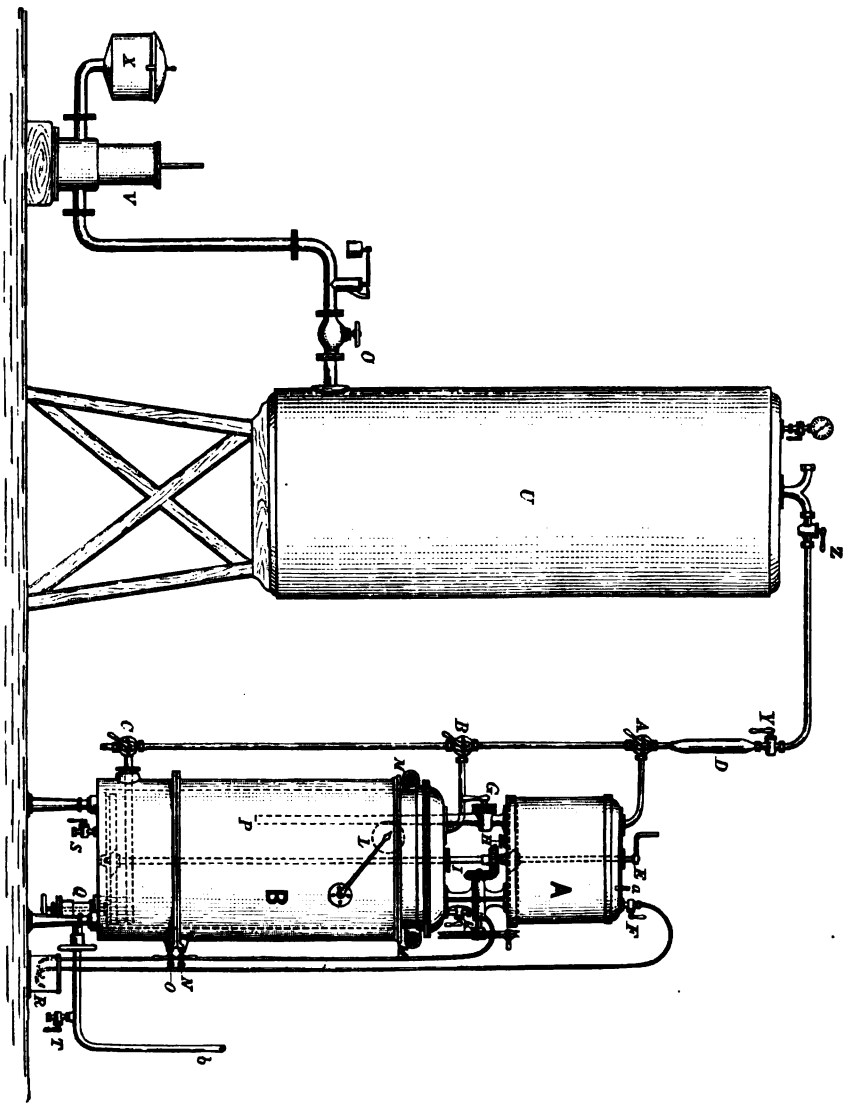


Fig. 13.

dafs das Wesentlichste ihm fehlte, nämlich die reine Hefe selbst. (Siehe zweites Heft: „Was ist die reine Hefe Pasteurs?"

Die oben genannten fremden Apparate kenne ich nur sehr unvollständig und habe sie nie geprüft. Mit dem beistehenden Apparate (Fig. 13 und 14) habe ich dagegen Gelegenheit gehabt, eine Probe zu

machen. Der Apparat ist von einer angesehenen dänischen Fabrik (Burmeister & Wain, Kopenhagen) ausgeführt, und ich hege kein Bedenken, ihn denjenigen zu empfehlen, welchen diese Modifikation gefallen möchte. Dafs beide Apparate in den wesentlichsten Punkten einander gleich sind, liegt in der Sache selbst. Der neue Apparat ist von den Herren Bergh und Jörgensen konstruiert, welche sich auch Patente sowohl fürs Inland als fürs Ausland haben geben lassen.

Die Fig. 13 zeigt die ganze Aufstellung des Apparates und seine Nebenteile. *X* ist ein Vorfilter, *V* eine Luftpumpe mit ihrem Leitungsrohre (*Θ*) zum Luftbehälter (*U*). Von diesem führt das Leitungsrohr (*ZY*) durch den Filter (*D*) zum Reinzuchtapparate. Die filtrierte sterile Luft wird durch drei Äste (nämlich bei *A*, *B* und *C*) in diesen hineingeleitet; die an diesen Stellen angebrachten Hähne sind Dreiwegshähne. (Diese Hähne erfordern eine grofse Vorsicht und Genauigkeit in den Manipulationen, weil man sonst leicht schlimme Fehler begehen kann.) Er besteht aus zwei Cylindern (*A* und *B*); beide sind aus Kupfer mit Messingböden. Der erstgenannte Cylinder fafst ungefähr 48, der zweite 160 l. In *A* findet sich ein Rührapparat (*E*), ein Rohr (*a*) zum Einführen der Hefe und zum Ausnehmen kleiner Proben. Letzteres geschieht dadurch, dafs man Luftdruck anwendet. Das gebogene Rohr (*F*) ist ein Ausführkanal für die Kohlensäure, *G P* ist ein gröfseres Leitungsrohr, durch welches die beiden Cylinder (*A* und *B*) mit einander in Verbindung stehen; durch den Hahn (*G*) kann diese Verbindung geöffnet oder geschlossen werden. Durch *H* wird das Spülwasser weggeführt, wenn eine Reinigung vorgenommen werden soll. Der Cylinder (*B*) ist oben von einem gufseisernen, zweiteiligen Mantel umgeben; von dem Deckel streckt sich ein geschlossenes Rohr für das Anbringen eines Thermometers in den Cylinder hinein. Der obere Teil dieses Mantels dient zur Aufnahme des Kühlwassers während der Abkühlung der Würze; während der Gärung kann man auch mittels dieses Wassermantels die Temperatur regulieren. Der untere Teil ist ein Dampfmantel, unten mit einem Hahn (*S*) zum Abzapfen des Dampfes und oben bei *O* mit einem Hahn zum Einführen desselben versehen. *M* ist ein ringförmiges, mit kleinen Löchern versehenes Rohr, welches während der Abkühlung in Verbindung mit einer Kaltwasserleitung steht; bei *N* wird das Wasser abgezapft. Der Cylinder (*B*) selbst hat seinen eigenen Rührapparat (*I*), welcher mittels eines Räderwerkes bewegt wird, und einen Mefsapparat (*L*), der aus einem Bogen und einem Schwimmer, welcher mit einem Zeiger versehen ist, besteht. (Beim Aufstellen mufs man einerseits genau darauf acht geben, dafs der Packen so fest geschraubt ist, dafs keine Flüssigkeit hindurchdringen kann, anderseits aber auch zugleich darüber wachen, dafs der Zeiger

mit genügender Leichtigkeit sich bewegen kann.) Vom Deckel geht das gebogene Rohr (*K*) aus. Am Boden befindet sich ein Hahn (*Q*), welcher in Verbindung mit dem Leitungsrohre (*b*) steht; letzteres ist mit einem Hahn (*T*) versehen. *R* ist ein kleines Gefäfs mit Wasser, in welches die Enden der gebogenen Rohre ausmünden.

Fig. 14.

Fig. 14 zeigt uns die zwei Cylinder, und zwar in einer perspektivischen Zeichnung mit Licht und Schatten behandelt. Eine besondere Erklärung derselben ist überflüssig.

Wenn der Apparat sterilisiert worden ist, wird die Würze in den Cylinder (Fig. 13 *B*) hineingeleitet und, falls es nötig ist, wird sie hier von siedend heifsen Dämpfen aufgewärmt, die man durch den Dampfmantel strömen läfst. Nachdem die Würze genügend gelüftet und dann abgekühlt worden ist, wird die Reinhefe durch das Röhrchen (*a*) in den oberen Cylinder (*A*) hineingeführt. Um die ganze Hefemenge niederspülen zu können, preíst man mittels Luftdrucks ein wenig Würze von *B* in A hinein. Wenn die ganze Hefemenge in *B* hineingebracht ist, wird bei *G* geschlossen. Nachdem eine kräftige Vermehrung der Hefe eingetreten ist, wird herumgerührt, und ein Teil der gärenden Flüssigkeit wird dann in *A* hinaufgeführt, um für die nächste Gärung in *B* benutzt zu werden; das Übrige wird herausgenommen, um als Stellhefe verwendet zu werden. Nach diesem Verfahren läfst man also die Gärung nicht so weit

gehen, dafs der gröfste Teil der Hefezellen als feste Bodensatzhefe sich niederschlägt, und derselbe Cylinder (*B*) wird abwechselnd als Gärungs- und als Würzecylinder angewendet. Während er auf letztgenannte Weise fungiert, befindet sich die Hefe, wie angegeben, im oberen Cylinder (*A*). Dafs man die erwähnten Manipulationen während der verschiedenen Stadien der Gärung ausführen kann, ist selbstverständlich, sowie auch, dafs mehrere Modifikationen in dem Gebrauch des Apparates möglich sind. Im Obenstehenden ist nur ein einzelnes Verfahren beschrieben worden, und zwar dasjenige, welches, sowie der Apparat konstruiert ist, wohl in den meisten Fällen als praktisch bezeichnet werden kann.

Rücksichtlich der Anwendung des Apparates verweise ich übrigens auf die Anleitung, die ich oben S. 41—49 gegeben habe. Besonders gilt alles, was damals über die Filtration der Luft, sowie über die Sterilisation der Cylinder, die Lüftung und Abkühlung der Würze mitgeteilt worden ist, auch vollständig in betreff des neuen Apparates.

Für die Obergärung haben Kokosinski, Wilson und Jensen kleine Änderungen bei dem Alt-Carlsberger Gärungscylinder eingeführt, insoweit sie ihn etwas höher gemacht und so eingerichtet haben, dafs die Würze in den oberen Teil des Cylinders eingeführt wird; sie bringen hier ein mit kleinen Löchern versehenes ringförmiges Rohr an, und indem sie die Würze durch dieses Rohr hineinführen, werden die Seiten des Cylinders abgespült, so dafs Anhäufungen von Hefe, Schaum u. s. w., welche sich gelegentlich während der früheren Gärung oben gesammelt haben, in die gärende Würze hineingeführt werden; eine fortgesetzte Anhäufung dieser Massen wird dadurch verhindert.[1])

---

[1]) Kapitän Kühle und ich haben uns kein Patent geben lassen, und es steht also jedem frei, unsern Apparat zu verfertigen. Wir empfehlen indessen denjenigen, welche ihn zu benutzen wünschen, die zwei Cylinder von Herrn Kupferschmied W. E. Jensen in Kopenhagen zu beziehen, weil dieses Etablissement selbst an der Konstruktion teilgenommen hat und genau damit bekannt ist. Nachstehend teile ich das Preisverzeichnis des Herrn Jensen mit:

Der Würzecylinder mit Wasserkappe und Überrieselungsring, vollständig ausgestattet (Fig. 10 *D*)	M. 784
Der Würzecylinder wie obenstehend, statt einer Wasserkappe nur eine Schale für das Spülwasser	„ 560
Der Gärungscylinder mit Wasserkappe, vollständig ausgestattet (Fig. 10 *C*)	„ 840
Der Gärungscylinder wie obenstehend, aber ohne Wasserkappe	„ 616
Das oben beschriebene Spiralrohr zum Sterilisieren der Würze	„ 66
Der gröfsere Gärungscylinder, für die Obergärung, mit Wasserkappe etc.	„ 900
Derselbe, aber ohne Wasserkappe	„ 675
Emballage und Assurance	„ 42

Der Hefereinzuchtapparat findet sich jetzt in mehr als 160 der gröfsten und bedeutendsten Brauereien; auch in einigen Brennereien ist er in der jüngsten Zeit eingeführt worden. So wie die Reform sich mit riesiger Schnelligkeit verbreitet hat, wird bald der Zeitpunkt kommen, wo eine stark verunreinigte Brauereihefe eine Seltenheit sein wird. Ein richtiges Verständnis von der Anwendung des Reinzuchtapparates wird ein kräftiges Mittel dazu sein, dieses Ziel zu erreichen. Im 2. Hefte habe ich ein Verzeichnis über die Brauereien, Brennereien etc. gegeben, welche den Hefereinzuchtapparat in ihrem Betriebe eingeführt haben.

Vergessen darf man aber nicht, dafs weder dieser Apparat, noch diejenigen, welche jetzt, nachdem mein System mehr und mehr verbreitet wird, an die Stelle der alten Kühlschiffe treten, anderes als das Sekundäre sind, sie sind nicht das Wesentliche im System und können es auch nie werden; ein grofser Mifsgriff ist es, sie anders zu betrachten. Die absolute Reinkultur der planmäfsig ausgewählten Hefeart ist und bleibt immer die Hauptsache,

---

Die Cylinder sind immer mit einem Deckel von der in Fig. 10 angegebenen Konstruktion versehen und aus verzinntem Kupfer mit übrigens vernickelter Metallarbeit verfertigt.

Die Preise der Fabrik Burmeister & Wain, Kopenhagen, sind die folgenden:

Der von Kapitän Kühle und mir in Vereinigung konstruierte Apparat.

Der Würzecylinder mit Wasserkappe und Überrieselungsring, vollständig ausgestattet (Fig. 10 *D*) . . . . . M. 850

Der Gärungscylinder mit Wasserkappe, vollständig ausgestattet (Fig. 10 *C*) . . . . . „ 950

Der neue Apparat von Herren Bergh und Jörgensen (siehe die Abbildungen Fig. 13 und 14, sowie die dazu gehörige Beschreibung) . . . . . „ 1520

Herr Laboratoriendirektor Jörgensen hat die Kontrolle der von der Fabrik Chr. Burmeister & Wain gelieferten Apparate übernommen.

Die aufgezeichneten Preise sind die im Februar 1895 geltenden.

Die Luftpumpe und der Luftbehälter sind überall zu bekommen. Eine passende Luftpumpe kostet ungefähr M. 448, ein Luftbehälter, mit einem Kubikinhalt von $^5/_8$ cbm und bei 5 Atm. geprüft, ungefähr M. 560.

Um Mifsverständnissen vorzubeugen, wird hervorgehoben, dafs weder Herr Kühle noch ich irgend eine Aufsicht über die Fabrikation der oben erwähnten Apparate haben und deshalb keine Verantwortung in dieser Richtung übernehmen. Auch können wir uns nicht darauf einlassen, Anfragen zu beantworten oder die Apparate betreffende Kommissionen auszuführen.

Man ersucht, alle Anfragen wegen der Apparate direkt an den Fabrikanten, mit welchem man zu verhandeln wünscht, zu richten.

nur dadurch erhalten diese Apparate Bedeutung. Man bekommt gute Resultate, wenn man die Reinzucht nach meinem alten Verfahren anwendet, aber nicht, wenn man im Apparate eine unreine Hefe hat.

Über die Filter.

Schneller und leichter würde man das Ziel erreichen, wenn es möglich wäre, die auf den Kühlschiffen abgekühlte und gelüftete Würze zu benutzen und sie durch Filtration von den Mikroorganismen, die sich immer darin befinden, zu reinigen. Der Würzecylinder wäre dann überflüssig, und das ganze Verfahren würde sich einfacher stellen. Versuche, die in dieser Richtung gemacht wurden, gaben indessen kein zufriedenstellendes Resultat.

An Filter, die hierzu angewendet werden sollen, mufs man nicht nur die Forderung richten, dafs sie eine absolut keimfreie Flüssigkeit geben, sondern auch, dafs sie binnen einer gewissen Zeit nicht zu kleine Mengen von Flüssigkeit passieren lassen, und endlich, dafs die Zusammensetzung der Flüssigkeit beim Filtrieren nicht wesentlich verändert wird. Das Filter Chamberlands leistet in dieser Beziehung den vorliegenden Mitteilungen zufolge das meiste, und das neue Modell, welches i. J. 1886 in den Handel kam, wurde deshalb auch gewählt. Die Versuche wurden nach meiner Anweisung von Herrn Assistent Poulsen ausgeführt. Die erreichten Resultate waren folgende: Ein Filter, aus fünf Rohren bestehend, gab während 2½ Stunden 10 l Tropfsackwürze (13,5 % Ball.), wenn ein Saugen von $^{6}/_{7}$ Atm. angewendet wurde, und wenn die Rohre durch Bürsten auswendig nach je zehn Minuten gut gereinigt wurden. Um in der angegebenen Zeit ein Hektoliter zu erhalten, müfste man also 50 Rohre haben. Die Reinigung würde unter diesen Verhältnissen ziemlich schwierig sein, und es würde sich leicht ereignen können, dafs bald dieses, bald jenes der vielen zerbrechlichen Rohre einen Stofs bekäme, so dafs gröfsere oder kleinere Risse entstünden. In solchem Falle würde man getäuscht werden, weil der Gärungscylinder dann eine infizierte Würze bekäme. Der wesentlichste Mangel ist indessen dieser, dafs die Würze beim Filtrieren die Hälfte ihres Gehaltes an Sauerstoff verlor, welcher während des Lüftens am Kühlschiffe aufgenommen worden war, und welcher für die normale Gärung notwendig ist.

Die Folge davon ist also, dafs es nicht vorteilhaft ist, das Filtrieren zu benutzen, um Würze für den Gärungscylinder zu sterilisieren. Während dieser Versuche wurde ich indessen der Vorzüglichkeit des Chamberlandschen Filters gewahr, wenn es sich darum handelt, für Laboratorienversuche verschiedene sterile Nährflüssigkeit darzu-

stellen. Falls man sich jedoch ein vollständig keimfreies Filtrat sichern will, so müssen die Rohre in kurzen Zwischenräumen sterilisiert werden. Sie dürfen nicht, wie man früher glaubte, so lange als man will, fungieren; denn nach kürzerer oder längerer Zeit gehen die Bakterien durch ihre Wände.

Wir haben also im Vorausgehenden erfahren, dafs die Chamberlandschen Filter sterile Flüssigkeiten geben; es ist daher auch selbstverständlich, dafs sie sterile Luft geben können. So schwierig es ist, sterile Flüssigkeiten in dieser Weise zu erhalten, ebenso leicht ist es, die Luft keimfrei zu machen. Es ist dieses eine alte, schon längst bekannte Sache, und die von Schröder und Dusch bei ihren berühmten Versuchen im Jahre 1854 über Generatio spontanea benutzten Filter aus Baumwolle haben bekanntlich auch eine grofse und verschiedenartige Anwendung in der Praxis erhalten. Um Klarheit darüber zu bekommen, wie solche Filter aus Baumwolle in der am meisten praktischen Weise für den oben beschriebenen Reinzuchtapparat einzurichten seien, habe ich im Jahre 1887 den Herrn Assistenten Poulsen gebeten, eine Reihe Versuche anzustellen, deren Resultate unten mitgeteilt werden:

Als sich ergab, dafs Metallrohre, wie die in Fig. 8 und 10 (*g* und *m*) abgebildeten, eine für die übrige Aufstellung passende Form und Gröfse haben, wurden die Versuche damit gemacht. In diesen Rohren kann, wie es schon früher mitgeteilt worden ist, eine Säule von Baumwolle, 22 cm lang und 3 cm im Durchmesser, aufgenommen werden. An dem nach unten gekehrten Ende findet sich ein kurzes Rohr mit einem Durchmesser von ca. $^3/_4$ cm. Das andere Ende ist offen und mit auswendigen Schraubengewinden versehen, so dafs ein Mundstück, welches nach oben mit einem kurzen Rohre endigt, aufgeschraubt werden kann. Die Baumwolle wurde in kleinen Portionen hineingestopft und mittels einer cylindrischen Stange durch Handkraft zusammengedrückt. Ehe das Mundstück aufgeschraubt wurde, wurde etwas Baumwolle darein gelegt, um grobe Unreinigkeiten aufzunehmen. Wichtig ist es, zu bemerken, dafs man in das Rohr des Mundstückes nicht Baumwolle hineinpressen darf. Durch dieses wird die Luft in das Filter hineingeführt; das entgegengesetzte Ende, durch welches sie dieses wieder verläfst, wurde, ehe es sterilisiert wurde, mittels eines festschliefsenden Stöpsels aus Baumwolle geschlossen. Nach diesen Vorbereitungen wird das ganze Filter sehr leicht in einem gewöhnlichen Trockenkasten zwei Stunden bei ungefähr 150° C. sterilisiert. Weil man, Mitteilungen von Klein zufolge, im Zweifel sein könnte, inwieweit ein Filter aus Baumwolle, wie das unserige, auch in der Mitte durch ein solches Erwärmen sterilisiert wird, wurden die erforderlichen

Versuche auch über diese Frage angestellt. Sie ergaben, dafs auch die Teile in der Mitte steril waren. Mit einem auf diese Weise sterilisierten Filter wurden die Proben so ausgeführt, dafs bedeutende Mengen unreiner Luft bei einem Druck von 3 bis 4 Atm. durch das Filter und wieder von diesem heraus in Kolben mit sterilisiertem Hefewasser geführt wurden. Diese letztgenannte Flüssigkeit ist für Bakterien sehr günstig. Die Kolben standen wenigstens 14 Tage bei einer Temperatur von ungefähr 30° C. Um auch auf Schimmel- und Hefenpilze Rücksicht zu nehmen, wurden unter denselben Umständen zugleich Kolben mit sterilisierter Bierwürze angewendet. Die Versuche wurden immer so ausgeführt, dafs die Luft, insofern sie bei ihrem Eintritt in die Flüssigkeit Keime enthielt, diese abgeben mufste. Aufserdem wurden, nachdem die Filtration beendet war, so schnell wie möglich Proben der Baumwolle in der oberen Partie des Rohres genommen und sogleich mit gehöriger Vorsicht in Kolben mit den oben erwähnten sterilen Nährlösungen übergeführt. Es zeigte sich dann, wie man es auch erwarten mufste, dafs die letztgenannten Proben immer lebendige Mikroorganismen enthielten. Dasselbe war auch der Fall mit der Luft, die durch das Filter gegangen war, falls dasselbe nur locker gestopft war, so dafs sich im beschriebenen Rohre nur 25 g Baumwolle oder noch weniger befand; wenn es dagegen fester gestopft war, mit 35 g oder noch mehr, war die Luft, welche selbst unter einem starken Drucke hindurchpassierte, immer von allen Keimen befreit, sie war vollständig steril geworden. Wenn man etwas Kraft anwendet, können 50 g Baumwolle ziemlich leicht in dem öfters erwähnten Rohre zusammengepreſst werden, so viel ist aber nicht notwendig. In den oben erwähnten Versuchen gingen durchschnittlich 16 l Luft durch die Flüssigkeit jedes Kolbens.

Für die Anwendung in der Praxis ist es von Bedeutung, die Frage zu erörtern, wie oft das Filter sterilisiert werden mufs. Man könnte ja annehmen, dafs die während des Einsaugens am oberen Ende festgehaltenen Mikroorganismen sich vermehren könnten und, wenn das Filter feucht wurde, nach und nach durch dieses dringen, wobei es folglich unbrauchbar würde. Um Klarheit darüber zu erhalten, liefsen wir einige der in den früheren Versuchen benutzten Filter, deren obere Teile Mikroorganismen enthielten, im Laboratorium sechs Monate liegen. Sie wurden dann wieder geprüft und zwar in derselben Weise wie früher. Das Resultat war, dafs sie immer sterile Luft gaben. Schärfere Proben wurden dann auf folgende Weise gemacht: Die im Deckel des Filters sich befindende Baumwolle wurde in Nährflüssigkeiten, welche eine kräftige Vegetation von Bakterien, Hefen und Penicillium glaucum enthielten, hineingetaucht. Durch diese infizierte Baumwolle

wurde dann Luft unter einem Druck von drei Atmosphären während zwei Stunden gepreſst. Die Probenkolben waren von derselben Art wie die früher erwähnten. Dann wurde dieses feuchte und stark infizierte Filter im Laboratorium drei Wochen aufbewahrt und nun einer ähnlichen Probe wie das erste Mal unterworfen. Das Resultat war in beiden Fällen dasselbe: die Luft, welche das Filter passiert hatte, war steril, keine von den in dem oberen Teile der baumwollenen Säule sich befindenden Mikroorganismen waren mitgerissen worden. Hiermit übereinstimmend ergab es sich, daſs Baumwolle, aus dem unteren Teile des Filters genommen, keine Entwickelung weder in Hefewasser noch in Bierwürze hervorrief; kräftige Vegetationen entwickelten sich dagegen, insofern diese Proben aus den oberen Schichten genommen wurden.

Aus diesen Analysen folgt, daſs solche Filter aus Baumwolle mehrere Monate hindurch, ohne einer neuen Sterilisation ausgesetzt zu werden, benutzt werden können; eine genaue Zeitangabe, für jeden Fall gültig, kann nicht gegeben werden; das Richtige muſs in jedem einzelnen Falle durch die Beobachtung ermittelt werden; jedenfalls ist zu empfehlen, dann und wann eine Sterilisierung vorzunehmen. Auch darf nicht übersehen werden, das Filter des Würzecylinders, wenn es abgenommen ist und für späteren Gebrauch aufbewahrt werden soll, sogleich mit einem Stöpsel aus sterilisierter Baumwolle in seiner unteren Mündung zu versehen. Ehe es wieder aufgeschraubt wird, muſs dieser weggenommen und die Mündung mittels einer Flamme gereinigt werden. Auch ist es empfehlenswert, den Deckel dann und wann abzuschrauben, um die obere unreine Schicht von Baumwolle mit reiner sterilisierter Baumwolle zu vertauschen.

Aus den oben erwähnten Versuchen darf man jedoch nicht den Schluſs ziehen, daſs durch diese Filter Flüssigkeiten sterilisiert werden können. Daſs dies nicht der Fall ist, wurde übrigens schon früher erwähnt. Wenn die Säule der Baumwolle ganz mit Flüssigkeit durchtränkt ist, hört ihre Fähigkeit zu sterilisieren auf. Es ist deshalb wichtig, daſs die Leitungsrohre zwischen dem Luftbehälter und den Filtern kein Wasser enthalten.

Die letzte Versuchsreihe, welche Poulsen auf meine Veranlassung ausführte, war eine Bestimmung der verschiedenen Mengen von Luft, die während einer Stunde unter verschiedenem Drucke durch die Filter passierten. Um diese durchströmenden Luftmengen zu messen, wurde ein sehr genauer Gasmesser angewendet. Der Vergleichung wegen wurde auch das Chamberlandsche Filter, ein Thonrohr mit dem Buchstaben F. bezeichnet, der Prüfung unterworfen. Das Resultat ist in der folgenden Tabelle angegeben.

I. Das Chamberlandsche Filter mit einem Rohre.
Bei 1 — 1¼ Atm. Druck 20 cbf während 1 Stunde,
„ ½ — ¾ „ „ 14 cbf „ „ „
„ ca. ½ „ „ ca. 10 cbf „ „ „
„ ca. ¼ „ „ ca. 5 cbf „ „ „

II. Das Filter mit 50 g Baumwolle (ca. 0,32 g pro 1 ccm).
Bei 3 Atm. Druck 120 cbf in 1 Stunde,
„ 1 „ „ 15 cbf „ „ „
„ ½ — 1 „ „ 14 cbf „ „ „
„ ⅓ — ½ „ „ 10 cbf „ „ „
„ ca. ¼ „ „ ca. 7 cbf „ „ „

III. Das Filter mit 35 g Baumwolle (ca. 0,22 g pro 1 ccm).
Bei ½ Atm. Druck 27 cbf in 1 Stunde,
„ ⅓ „ „ 19 cbf „ „ „
„ ¼ „ „ 12 cbf „ „ „

Dafs in obenstehender Tabelle nicht noch mehrere Versuchsresultate mitgeteilt sind, hat seinen Grund darin, dafs Poulsen nur eine kurze Zeit den Mefsapparat zu seiner Verfügung hatte. Die von ihm gefundenen Werte geben gleichwohl einen hinreichenden Aufschlufs darüber, was die beiden Sorten von Filtern in der genannten Richtung leisten können. Wenn wir die erhaltenen Zahlen vergleichen, so sehen wir, dafs das Chamberlandsche Filter und das Baumwollefilter mit 50 g ungefähr dasselbe leisten, dafs aber das Baumwollefilter mit 35 g beide bedeutend übertrifft. Es ist selbstverständlich, dafs die Versuche auf dieselbe Weise und mit demselben Mefsapparate ausgeführt wurden.

Die oben beschriebenen Luftfilter werden nicht nur bei dem Reinzuchtapparate, sondern auch bei den Centrifugen von Bergh, sowie bei Ritters Apparat zum Aufziehen der Hefe benutzt. In einer etwas geänderten Gestalt werden sie zugleich bei dem Alt-Carlsberg-Apparate und bei den ähnlichen geschlossenen Behältern angewendet, welche in den letzten Jahren statt der offenen Kühlschiffe eingeführt worden sind.

Die Überführung der Hefe in den Reinzuchtapparat und deren Versendung.

Die Hefe, welche verwendet werden soll, um die ca. 170 l Würze, die sich im Gärungscylinder befinden, in eine normale Gärung zu bringen, wird in den vier vorausgehend beschriebenen Metallkolben (Fig. 5 oder 6) gezüchtet. Nachdem man in diesen auf die angegebene Weise einen so grofsen Hefebodensatz wie möglich erhalten hat, wird alles Bier abgezapft. Zu jedem Kolben wird dann ½ — ⅔ l sterilisiertes

Wasser zugegeben, um damit die Hefe durch Schütteln los zu machen. Die auf diese Weise sehr stark verdünnte Hefemasse wird dann in sterilisierte, zweihalsige Literkolben aus Glas übergeführt. Man wird sich selten mit vier begnügen können, in der Regel mufs man sechs benutzen. Der Inhalt derselben wird endlich in den Gärungscylinder durch das Rohr *j* (Fig. 8 und 10) oder *a* (Fig. 13) übergeführt. Alle diese Arbeiten müssen natürlich so ausgeführt werden, dafs die Kultur rein bleibt.

Die Hefe direkt von den Metallkolben überzuführen ist unmöglich, wenn das Rohr, durch welches sie eingeführt werden soll (*j*, Fig. 8 und 10), sich an der Wand des Cylinders befindet. Die Stellung dieses Rohres ist nämlich mit Rücksicht darauf bestimmt, dafs es zugleich dazu dienen soll, Proben in sterilisierte Kolben herausnehmen zu können, so dafs man, wenn man es wünscht, immer im stande ist, zu untersuchen, ob die Kultur im Apparate eine Reinkultur ist oder nicht. [1])

Um die Hefe analysieren und die Reinkultur darstellen zu können, ist eine besondere Kenntnis und grofse Übung erforderlich, welche man sich nur durch ein längere Zeit fortgesetztes Arbeiten in einem hierzu eingerichteten Laboratorium erwerben kann. Ein Hilfsmittel leisten meine verschiedenen Abhandlungen über dieses Thema, besonders aber die gegenwärtige. Dem Praktiker gegenüber haben sie die Aufgabe, die Bedeutung der neuen Reform einleuchtend darzuthun, so dafs er sich veranlafst fühlt, sie auf eine vernünftige Weise in seinem Betriebe einzuführen. Sind meine gegenwärtigen Abhandlungen indessen so geschrieben, wie ich es selbst gewünscht, so werden sie ihn sogleich überzeugen, dafs er selbst nicht im stande ist, diese schwierigen Arbeiten auszuführen, sondern dafs er bei Sachkundigen Hilfe suchen mufs.

Eine solche ist jetzt nicht schwer zu erhalten; einige Brauereien haben für sich selbst Laboratorien eingerichtet; gewöhnlich werden aber öffentliche Anstalten dazu benutzt, und dies wird wohl in den meisten Fällen vorzuziehen sein. Folgende öffentliche Laboratorien haben meine Methoden in ihr Programm aufgenommen: A. Jörgensens Laboratorium, Frydendalsvej, Kopenhagen; Detlefsens und Meyers Laboratorium, Kopenhagen; Ancker und Berghs zymotechnisches Laboratorium, Stockholm; Miller, Manchester; die Versuchsstationen in Weihenstephan, Berlin, München, Nürnberg, Augsburg, Hohenheim, Prag, Odessa und Wien; die Münchener praktische Brauerschule; die Wormser Brauer-

[1]) In Berghs und Jörgensens Konstruktion (Fig. 13 *a*) stellt die Sache sich anders.

schule; Doemens Brauerei-Akademie in München; Ehrichs Versuchsstation für Brauerei in Worms; Eckenroths Laboratorium in Ludwigshafen a. Rh.; Kokosinskis Laboratorium in Lille; Laboratoire de brasserie de la faculté des sciences de Nancy, Wahls und Henius' Laboratorium in Chicago, und Brewing Academy in Milwaukee. Vielleicht sind noch mehrere andere, mir unbekannte vorhanden; wenn sie hier folglich nicht erwähnt worden sind, darf man es nicht als einen Mangel an Rücksicht von meiner Seite auffassen. Hierzu kommen in der neuesten Zeit einige Stationen und Laboratorien, besonders in Deutschland, welche sich speziell mit der Spiritus,-Preſshefe- und Weinfabrikation beschäftigen. Ich ersuche, daſs jene Etablissements, welche in der erwähnten Richtung eine Hilfe wünschen, sich an die obengenannten Anstalten wenden. Das Carlsberger Laboratorium hat als wissenschaftliche Anstalt andere Aufgaben und kann sich damit nicht beschäftigen.

An dieser Stelle ergreife ich zugleich die Gelegenheit, mitzuteilen, daſs ich deshalb auch nur ausnahmsweise Schüler aufnehmen kann und nur solche, die eine wissenschaftliche Vorbildung haben (Physiologen, Botaniker, Chemiker). In dem Carlsberger Laboratorium wird kein Honorar erlegt. Korrespondenten, welche mir unbekannt sind, werden höflichst gebeten, ihren Ansuchen gleich die nötigen Zeugnisse von Autoritäten beilegen zu wollen. Populäre elementäre Kurse werden in Jörgensens obengenanntem Laboratorium, sowie in den meisten der erwähnten Laboratorien und Versuchsstationen gehalten; hier wird gewöhnlich auch weiter Vorgeschrittenen Gelegenheit zum wissenschaftlichen Arbeiten geboten.

Um die in der Brauerei Alt-Carlsberg benutzte Hefe Nr. 1 zu beziehen, wolle man sich wie früher direkt an Herrn Kapitän Kühle wenden.

Der Brauer muſs seinen Apparat selbst überwachen und bedienen und, wenn kein zymotechnisches Laboratorium in der Nähe ist, in der Regel auch selbst die Hefe in den Gärungscylinder hineinführen. Oft wird er dazu genötigt sein, seine Hefe aus weiter Ferne zu sich kommen zu lassen. Mit Rücksicht hierauf habe ich folgendes Verfahren ausgearbeitet. Ich hatte dabei das Ziel vor Augen, daſs die Versendung mit der möglichst gröſsten Sicherheit vor sich gehen und das Ganze dennoch einfach sein soll; der Brauer soll nichts anderes zu thun haben, als den betreffenden Kolben, worin die Hefe sich befindet, zu schütteln und in Verbindung mit dem kleinen Rohre (*j*) an der Wand des Gärungscylinders (Fig. 8 und 10) oder mit dem Röhrchen, *a*, am Deckel (Fig. 13) zu bringen. Die ganze Hefemenge soll sich dann mit Leichtigkeit in diesen hineingieſsen lassen. Aus diesen Gründen

benutze ich einen starken, aber ziemlich kleinen und überhaupt so konstruierten Glaskolben, wie er nachfolgend beschrieben ist.

Man wendet einen Kolben zu $1\frac{1}{2}-2$ l, aus dickem starkem Glase und mit flachem Boden, an, wie Fig. 15 darstellt, so dafs keine Unterlage nötig ist. In Fig. 16 ist ein Längenschnitt des geraden Rohres dargestellt; *c* ist das Glasrohr, dessen Mündung mit einem kleinen Kragen versehen ist; *b* ist ein dicht anschliefsender Kautschukstöpsel, *a* eine darüber gespannte, starke Kautschukkappe, welche bei *d* mittels Kupferdraht festgemacht ist; in Fig. 15, *a* ist dieses Überbinden deutlich zu sehen. Der Kautschukstöpsel (*b*, Fig. 16) mufs nicht nur sehr genau schliefsen, sondern auch so eingerichtet sein, dafs er ziemlich leicht herausgenommen werden kann, wenn die Kappe (*a*) entfernt wird. Ein Kautschukschlauch (*b*, Fig. 15), in dessen unterer Mündung sich ein Glasrohr (*c*) befindet, ist mit dem gebogenen Halse des Kolbens (*d*) verbunden. Der Kautschukschlauch (*b*) mufs stark sein und an den zwei Röhren mittels Metalldraht befestigt werden; in der Nähe der Mündung des gebogenen Halses befindet sich ein Quetschhahn, welcher den Schlauch vollständig zu schliefsen vermag. Im Glasrohre, welches am unteren Ende etwas zugespitzt sein soll, ist ein Baumwollefilter eingeschlossen.

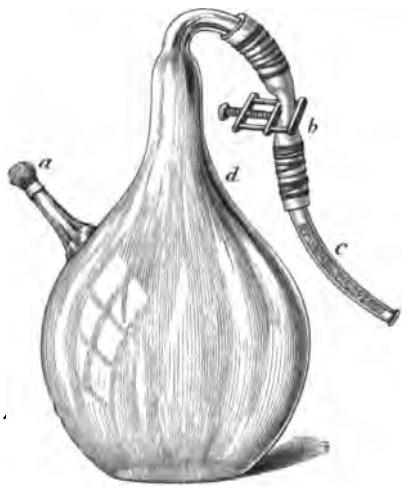


Fig. 15.

Man soll nicht mehr Baumwolle in dieses Rohr hineinstopfen, als notwendig ist um zu verhindern, dafs die Keime der Luft in den Kolben hineindringen, wenn die Flüssigkeit desselben durch das gerade Rohr (*a*, Fig. 15) herausgegossen wird. Bei Anwendung dieses Filters vermeidet man, eine Flamme benutzen zu müssen. Die aus Kautschuk verfertigten Teile werden durch Kochen im Wasser oder mittels Dampf sterilisiert, das Übrige mittels eines zweistündigen Erwärmens in einem Trockenschrank bei ca. 150° C. Im voraus werden die Mündungen der Glasrohre mit Stöpseln aus Baumwolle verschlossen. Weil der Kolben aus dickem Glase gemacht ist, mufs man bei dem Sterilisieren sehr vorsichtig sein; er wird auf eine Korkunterlage gestellt, welche wieder auf einer Platte aus Asbest ruht, und man mufs dafür

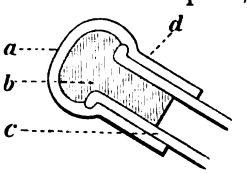


Fig. 16.

sorgen, dafs die Temperatur oben und unten im Kasten nicht zu grofse Differenzen zeigt. Nach der Abkühlung nimmt man den Stöpsel aus Baumwolle (bei *b*, Fig. 15) weg, wonach der Kautschukschlauch, der Quetschhahn und das Rohr mit dem Baumwollefilter so schnell wie möglich auf die betreffenden Stellen gebracht werden.

In diesen Kolben wird die Hefe, welche nach dem oben beschriebenen Verfahren in einem der Metallgefäfse von 10 l (Fig. 5 oder 6) gezüchtet ist, übergeführt, und man setzt dann sterilisiertes Wasser dazu, bis der Kolben ungefähr bis zu Dreiviertel gefüllt ist. Zuletzt werden der Stöpsel (*b*), die Haube (*a*) und die Bänder aus Metalldraht bei *d*, Fig. 16, angebracht und der Quetschhahn am Kautschukrohre (*b*, Fig. 15) geschlossen. Hiermit ist der Kolben fertig zum Einpacken. Dieses mufs so gemacht werden, dafs der Kolben, wenn er herausgenommen wird, eine sterile Oberfläche hat, was man erreichen kann, wenn man ihn z. B. mit Baumwolle oder einem andern Stoffe umgibt, welcher erst der eben genannten hohen Temperatur ein paar Stunden lang ausgesetzt worden ist. Vom betreffenden Laboratorium mufs die Versendung mit einer ausführlichen und deutlichen Anweisung begleitet werden, in welcher das Wichtigste besonders hervorgehoben wird.

Auf meine Anregung hin war das Jörgensensche Laboratorium so gütig, dieses Verfahren bei seinen Versendungen von Kopenhagen nach den Auslanden zu prüfen. Das Resultat war in allen Fällen ein günstiges. Ein Kolben von Metall ist natürlicherweise bei der Versendung stärker, man mufs dann aber auf die oben angegebenen Vorteile des Glaskolbens verzichten.

Die in dem soeben beschriebenen Ballone sich befindende Hefe genügt, um auf die gewöhnliche Weise 50 l Würze in Gärung zu bringen. Das Abmessen derselben kann man durch das Flüssigkeitsstandrohr (*f*, Fig. 8 und 10) vornehmen, da es auf eine grofse Genauigkeit nicht ankommt. Wenn der Raum, in welchem der Gärungscylinder sich befindet, eine Temperatur von ca. 8° C. hat, kann man nach 4—5 Tagen neue Würze hinzugeben, bis zur obersten Marke des Glasrohres (*f*), und der Apparat ist dann in regelmäfsigem Gange; wenn die Entwickelung aber langsam vor sich geht, mufs man etwas länger warten.

Fig. 17.

Um reingezüchtete Hefe in einem absolut reinen Zustande versenden zu können, und zwar so, dafs sie leicht und sicher vermehrt werden kann, habe ich ebenfalls mit einem guten Erfolge nachstehendes Verfahren angewendet: An den kleinen cylindrischen Kolben, die wir gewöhnlich Freudenreichs Kolben

nennen, habe ich ein Seitenrohr anbringen lassen (Fig. 17). Das Rohr *a*, mit welchem die Haube versehen ist, wird wie gewöhnlich mit Baumwolle gefüllt; am Boden des Kolbens wird eine festliegende Schicht aus Baumwolle (*e*) angebracht und ebenfalls ein Stöpsel in der oberen Mündung (*b*). Nachdem auch das gerade Rohr mit einem Stöpsel aus Baumwolle versehen worden ist, wird der auf diese Weise präparierte Kolben durch ein zweistündiges Erwärmen bei ca. 150° C. sterilisiert. Nach dem Abkühlen wird das gerade Rohr in Verbindung mit dem Kautschukschlauch eines zweihalsigen Kolbens gesetzt, in welchem die betreffende Hefe gezüchtet worden ist. Einen Tropfen davon in ziemlich dickflüssigem Zustande läfst man in die baumwollene Schicht (*e*) hineinlaufen. Dann wird das Rohr mittels eines in der Flamme gereinigten Stöpsels von Asbestpappe (*d*) geschlossen, und über diesen wird dann eine Haube aus Siegellack (*c*) angebracht.

Eine Hauptaufgabe für mich bei der Konstruktion war diese, die Hefe vor Infektion zu bewahren, ohne den Kolben luftdicht zu verschliefsen. Deshalb mufs die baumwollene Schicht (*e*) am Boden fest gepreſst werden, so dafs sie ihren Platz nicht verlassen kann, und deshalb soll man auch gleichzeitig mit den Hefezellen nicht mehr Flüssigkeit, als unumgänglich notwendig ist, hineingiefsen. Sollte aber ein wenig Flüssigkeit beim Umkehren des Kolbens aus der baumwollenen Schicht am Boden heraustreten, so würde sie doch nicht entschlüpfen können; das gerade Rohr ist nämlich vollständig verschlossen, und an der Mündung (*b*) würde sie von dem baumwollenen Stöpsel aufgenommen werden. Wenn diese Hefe später angewendet werden soll, mufs man die Haube aus Siegellack (*c*) abschaben; mittels einer Flamme wird sowohl das gerade Rohr als die ganze Oberfläche des Kolbens gereinigt; der Asbeststöpsel wird mittels einer, ebenfalls durch eine Flamme gereinigten Pinzette in den Kolben hineingestofsen oder auch herausgenommen, wonach das Rohr in den Kautschukschlauch eines zweihalsigen Kolbens mit Nährflüssigkeit so schnell als möglich eingeführt wird; auch kann man, wenn man nicht mit zweihalsigen Kolben zu arbeiten wünscht, sehr leicht mittels einer Pipette durch das gerade Rohr sterile Nährflüssigkeit für die in der baumwollenen Schicht (*e*) sich befindenden Zellen hineinbringen. Statt dieser Schicht kann auch eine Gelatineschicht angewendet werden; weil eine solche aber sich nur mit Schwierigkeit sterilisieren läfst, falls sie nicht die Fähigkeit verlieren soll, wieder erstarren zu können, und weil auch andere Übelstände daran verknüpft sind, habe ich immer der Baumwolle den Vorzug gegeben.

Das soeben beschriebene Verfahren hat namentlich als ein vorzügliches Mittel zur Versendung von Hefereinkulturen nach den Tropen

eine grofse praktische Bedeutung bekommen. Jörgensens Laboratorium hat dieses Verfahren mit Erfolg für seine Hefesendungen von Kopenhagen nach Süd-Amerika, Asien und Australien angewendet. Auch Grönlund hat es mit guten Resultaten in einigen Sendungen zwischen Kopenhagen und Ecuador in Süd-Amerika probiert. Hervorzuheben ist, dafs die Kolben an einem trockenen Platze stehen müssen, weil sonst Schimmelpilze leicht durch den äufsersten Wattepfropf bei *a* wachsen können; daher ist es selbstverständlich auch wichtig, dafs dieser nach dem Sterilisieren auch vollständig trocken ist. Ist nur die Rede von kürzerer Zeit, z. B. ein Paar Monate, wird man wohl mit Lacke schliefsen können. Alles wird dann vollständig sicher sein.

II.

Studien über die Hefearten.

1. Merkmale der Saccharomyces-Arten.

Die oben beschriebene Methode zur Reinzucht der Hefe in der Praxis ist darauf begründet, dafs die Saccharomyces-Zellen als bestimmte Arten auftreten, und dafs eine Konstanz in den von mir aufgefundenen Charakteren vorhanden ist. Falls unter diesen Organismen der eine sich leicht in den andern umwandeln würde, so dafs die Grenzen verschwinden würden, wie einige Forscher anzunehmen geneigt sind, so würden meine Untersuchungen mit Rücksicht auf die Praxis den gröfsten Teil ihrer Bedeutung verlieren. Es ist deshalb auch eben dieser Punkt, auf welchen meine Gegner einen der wichtigsten Angriffe gestützt haben. Die folgende Darstellung nimmt zwar hauptsächlich auf die Brauereihefen Rücksicht, um aber verständlich zu werden, müsste sie gewissermafsen einen Überblick über einige der wichtigsten meiner Hefestudien enthalten.

Dafs eine systematische Untersuchung der Hefearten mit den Endosporen anfangen, und dafs sie eine experimentelle sein mufs, liegt in der Sache selbst. Hievon ausgehend habe ich auch meine Studien auf diesem Gebiete angefangen. Sie zeigten nicht nur, dafs es verschiedene Saccharomyces-Arten gibt, sondern gaben uns zugleich die ersten bestimmten Merkmale für diese. Es zeigte sich nämlich, dafs die Temperaturkurven für den Entwickelungsgang der Sporen hauptsächlich zwar dieselbe Form haben, dafs aber die Kardinalpunkte, besonders diejenigen der Maximums- und Minimumstemperaturen, charakteristische Merkmale darbieten. Auch in anderen Beziehungen erfuhren

wir, dafs ein Unterschied vorhanden ist in der Weise, in welcher die Arten gegenüber den Temperaturen in verschiedenen Medien reagieren: im destillierten Wasser wird z. B. die Todesgrenze der Arten bei verschiedenen Temperaturen erreicht, während alle übrigen Bedingungen dieselben sind. Differenzen treten auch hervor rücksichtlich der Knospenbildung, der Gärthätigkeit, der Hautbildung u. s. w.

Wenn sie unter gleichartigen Verhältnissen gezüchtet werden, können die Formen der Zellen Charaktere für Gruppen und bisweilen auch für Spezies darbieten; dies gilt sowohl für die Vegetationen der Bodensatzhefe als für die der Hautbildung und nicht nur, wenn die Kultur in Flüssigkeiten, sondern auch, wenn sie auf festem Nährsubstrate vor sich geht. Fast alle Saccharomyces-Arten können freilich unter denselben Formen auftreten, und wenigstens von den meisten, wenn auch nicht von allen Arten kann jede für sich in ihrem Entwickelungskreise alle die von Reefs aufgestellten Speziesformen annehmen. Dieselben Formen treten aber bei den verschiedenen Arten nicht unter denselben Bedingungen hervor. Der Charakter liegt also nicht in der Form an und für sich allein, wie Reefs und seine Nachfolger glaubten, sondern zugleich in den äufseren Bedingungen, durch welche sie hervorgerufen wird.

Deutliche Differenzen zeigen sie in ihrem Verhalten zu den Zuckerarten, besonders zur Maltose, und überhaupt durch die chemischen Veränderungen, welche sie in den Nährflüssigkeiten hervorrufen. In Verbindung damit steht auch die Thatsache, dafs einige in der Industrie angewendet werden können, andere dagegen nicht, und dafs einige sogar Krankheiten im Biere hervorrufen.

Auch gegenüber einiger bakteriologischen Färbungsmethoden zeigten sich Differenzen, aber nur graduelle.

Von gröfserer Bedeutung, wenigstens für die praktische Analyse, scheint die Differenz zu sein, welche unter gewissen Züchtungsverhältnissen in dem Plasmainhalt der Sporen bei den Kultur-Hefearten auf der einen und den wilden Hefearten auf der anderen Seite hervortritt. Wenn wir uns nur an das mikroskopische Bild halten, zeigt diese Differenz sich darin, dafs die Sporen der erstgenannten Arten ein weniger dichtes und das Licht weniger stark brechendes Plasma enthalten; in der Regel finden sich Vacuolen darin, und die Sporen haben oft ein Aussehen, als wären sie entleert, in welchem Falle die Wand folglich deutlich hervortritt. Die Sporen bei den wilden Hefearten sind im Gegensatze hierzu mit einem gleichartigen, ziemlich stark lichtbrechenden Plasma vollständig ausgefüllt. Kurze Zeit, nachdem ich in meinem oben citierten Vortrage darauf aufmerksam gemacht hatte, wurden mir von anderen Forschern Mitteilungenge macht, dafs sie

Ähnliches beobachtet hatten. Es zeigt sich indessen hier wie gewöhnlich, wenn man eine Frage einer gründlichen experimentellen Behandlung unterwirft, dafs sie mehr Seiten hat, als man im Anfange gedacht hatte, und dafs zu deren Lösung eine lange Reihe von Studien erforderlich ist. Abgesehen von den Schwierigkeiten, welche die mikroskopische Untersuchung für sich allein darbietet, wenn sie uns bestimmte Anhaltspunkte für das vorliegende Bauverhältnis geben soll, so zeigt sich dieses auch in anderer Hinsicht ziemlich zusammengesetzt. Die Bier-Unterhefearten können nämlich auch unter Umständen mit glänzenden, mit dichtem Plasma gefüllten Sporen auftreten, und umgekehrt können die wilden Hefearten Sporen mit dem bei den Bier-Unterhefearten erwähnten Bau haben. An dieser Stelle, wo von den Differenzen zwischen den Arten die Rede ist, kann es gewifs nur von Interesse sein, hervorzuheben, dafs, während einige, wie z. B. mein Sacch. Pastorianus I sehr leicht dazu gebracht werden, Sporen mit dem erwähnten Aussehen, als wären sie entleert, zu entwickeln, dies dagegen mit anderen z. B. Sacch. ellipsoideus II schwieriger ist. Dafs ein eigentümliches Bauverhältnis vorhanden ist, welches bei der Analyse von Bierhefe seine praktische Bedeutung hat, zeigen jedoch alle die von mir bis jetzt gemachten Studien.

Während die Sporen bei den meisten Arten rund, oval oder nierenförmig sind, sind sie bei anderen dagegen hutförmig. Auch mit Rücksicht auf die Keimung treten morphologische Differenzen hervor, obwohl solche zu den Seltenheiten gehören. Unterschiede zwischen den Spezies kann man auch in den Sprofssystemen beobachten, welche der Sporenbildung vorausgehen.[1])

Selbstverständlich kann man nicht in allen Fällen mittels eines Charakters die Arten von einander unterscheiden, sondern man mufs

[1]) Die oben erwähnten Untersuchungen habe ich in Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, Kopenhagen, 1882, 1883, 1886, 1888 und 1891 veröffentlicht. Eine, von der Redaktion der Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, München, besorgte Übersetzung der französischen Résumés findet sich in den entsprechenden Jahrgängen der genannten Zeitschrift. Über das Verhalten der Hefezellen auf festen Nährböden und über die oben erwähnte Differenz in dem Bau der Sporen habe ich eine kurze Mitteilung in meinem Vortrage zu Graz am 12. Juni 1887 gegeben (siehe die Zeitschr. f. Bierbrauerei, Wien 1887 S. 518 und Centralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde 1887 II. B. S. 118).

Die Namen »Kulturhefe«, »Kulturarten«, »Brauereihefe« u. s. w. bedeuten nicht, dafs diese Arten durch die Einwirkung der Kultur entstanden sind, denn darüber wissen wir ja noch nichts, sondern nur, dafs sie im Dienste der Industrie angewendet werden. Alle andern Saccharomyceten werden im Gegensatze hierzu »wilde Hefe«, »wilde Hefearten« genannt. Soweit die Untersuchungen reichen, dürfen wir annehmen, dafs nicht nur die sog. wilden Hefearten, sondern auch die Kulturarten in der freien Natur auftreten.

öfters mehrere zu Hilfe nehmen. Von wesentlicher Bedeutung sind jene Charaktere, welche der Entwickelungsgang der Sporen darbietet; ich habe sie auch als Grundlage meiner Methode zur Analyse der Brauerei-Unterhefe angewendet und um so mehr, weil sie uns dazu in den Stand setzen, ohne vorhergehende Reinzucht direkt eine Analyse vorzunehmen, wenn es sich darum frägt, ob Krankheitshefen zugegen sind oder nicht.[1]) Noch schärfer wird diese Analyse, wenn wir dieselbe mit der im 2. Hefte erwähnten Weinsäure-Methode verbinden. Die von mir angegebenen Merkmale für die Saccharomyces-Arten enthalten das Hauptsächlichste von dem, was wir über die Biologie dieser Organismen wissen, und werden also auch von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet ihren Wert behalten, wenn wir dereinst im stande sein werden, sie durch bessere Merkmale zu ersetzen.

Wir haben also eine Reihe Saccharomyceten gefunden, die auf verschiedene Weise äufseren Einflüssen gegenüber reagieren. Dafs die beobachteten Merkmale nicht ganz der Art sind wie die, welche wir bei höheren Organismen kennen, kann uns nicht wundern, wenn wir bedenken, dafs unsere Organismen nur aus einer einzigen Zelle bestehen. Wenn wir sie indessen als Arten auffassen sollen, müssen die gefundenen Unterscheidungsmerkmale auch konstant sein. Um Kenntnis darüber zu bekommen, inwiefern dies der Fall ist oder nicht, müssen wir aber wieder besondere Versuchsreihen anstellen, indem wir längere Zeit hindurch die Zellen, welche wir vorläufig als Repräsentanten verschiedener Arten angenommen haben, verschiedenen Lebensbedingungen aussetzen, teils jede einzelne für sich in absoluten Reinkulturen, teils mehrere miteinander gemengt, folglich unter Einflufs der Konkurrenz. Von solchen planmäfsigen Studien habe ich im Laufe der letzten 12 Jahre grofse Reihen ausgeführt, besonders mit den 6 Arten, die ich i. J. 1883 in die Litteratur eingeführt habe, später aufserdem mit einigen anderen, unter welchen auch Brauerei-Hefearten waren. Als Resultat wurde erhalten, dafs es verhältnismäfsig leicht war, vorläufige in verschiedener Richtung sogar grofse Variationen hervorzurufen, dafs diese aber bei passender Züchtung wieder verschwanden, wonach die betreffende Art zu ihrem früheren Zustande zurückkehrte; neue Arten oder Varietäten konnte ich nur durch eine bestimmte, tiefeingreifende und durch längere Zeit fortgesetzte

[1]) Just Chr. Holm et S. V. Poulsen: »Jusqu'à quelle limite peut-on, par la méthode de M. Hansen, constater une infection de »levûre sauvage« dans une masse de levûre basse de Saccharomyces cerevisiae?« Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, Copenhague vol. II livr. IV 1886 et livr. V 1888. Die Übersetzung dieses Resumés findet man in den entsprechenden Jahrgängen der Zeitschrift f. d. ges. Brauw.

Behandlung hervorbringen; im folgenden werde ich einige Mitteilungen darüber geben. Praktisches Interesse für uns hat es, dafs die Arten in Kulturen von Bierwürze, welche mehrere Jahre ununterbrochen fortgesetzt wurden, nur kleine Schwingungen zeigten; nicht nur Versuche im Laboratorium, sondern zugleich eine beinahe elfjährige Erfahrung in verschiedenen Brauereien, in welchen die Hefereinzucht vollständig durchgeführt ist, haben dies bestätigt. Meine Erfahrung weist, kurz gesagt, darauf hin, dafs wir mit demselben Rechte bei diesen Pilzen Spezies annehmen können, wie bei den höher entwickelten.[1])

Diese Resultate mufsten hier erwähnt werden, weil sie, wie oben berührt, einen wichtigen Teil der Grundlagen meiner praktischen Arbeiten bilden.

2. Ober- und Unterhefe.

Die Ansichten über die Frage, inwieweit die Ober- und Unterhefe der Brauereien eine oder mehrere Arten ausmachen, gehen bekanntlich noch weit auseinander. Bei Reefs wird die Ansicht bestimmt ausgesprochen, dafs sie zwei Varietäten derselben Spezies, Sacch. cerevisiae, sind, und dafs die eine sich in die andere umbilden kann; besonders hebt er hervor, wie Ale-Oberhefe, nachdem sie einige Tage in Würze bei 4—6° C. kultiviert war, sich in eine typische Unterhefe umbildete.

Pasteur nimmt, wie es in meiner vorhergehenden Abhandlung erwähnt worden ist, keinen bestimmten Standpunkt in den Fragen

[1]) In der jüngsten Zeit ist von Takamine wieder hervorgehoben worden, dafs der bei der japanischen Sakefabrikation angewendete Aspergillus Oryzae Hefezellen entwickelt, welche eine sehr kräftige Alkoholgärung erregen. Juhler gelangte durch seine Züchtungen zu dem gleichen Resultate und teilte aufserdem mit, dafs diese Hefezellen Endosporen bildeten und mit den Saccharomyceten übereinstimmten. Durch Juhlers Mitteilungen wurde der Anstofs dazu gegeben, dafs die Ansichten über die Abstammung der Saccharomyceten von gewöhnlichen Schimmelpilzen, für welche Bail, Hoffmann u. A. vor beinahe 50 Jahren eintraten, und welche auch seitdem stets Anhänger gehabt haben, jetzt wieder auf die Tagesordnung gekommen sind. Jörgensen bestätigte die Richtigkeit der Beobachtungen Juhlers und teilte nachher mit, er habe ähnliches bei anderen, nicht näher angegebenen Aspergillus-Arten, sowie auch bei Dematium entdeckt. (Centralblatt f. Bakteriologie. Zweite Abt. 1895. S. 16, 65, 321 u. 326.)

Auf die systematische Analyse haben diese Untersuchungen bisher keinen Einfluſs erreicht. Hierzu ist erforderlich, dafs wir mit den Hefezellen selbst Versuche anstellen und damit so weit gedeihen, dafs wir in jedem einzelnen Falle die entsprechende Stammform nachzuweisen im stande sind. Ich habe öfters die Wichtigkeit derartiger Versuche hervorgehoben und auch vor mehreren Jahren selber die ersten positiven Beiträge in dieser Hinsicht gegeben, indem ich nachwies, wie typische Saccharomyceten teils ein Mycelium mit deutlichen Querwänden, teils auch Oïdium- und Dematium-ähnliche Formen entwickeln können (siehe namentlich meine Abbildungen in Zopfs Handbuch der Pilze, 1890, S. 703, und die Tafeln in den Mitteilungen des Carlsberg-Laboratoriums 1886).

über die Saccharomyceten ein; er beschränkt sich nur darauf, verschiedene Möglichkeiten zu diskutieren; doch ist er am meisten geneigt anzunehmen, dafs Brauerei-Unterhefe sich leicht in Oberhefe umbilden kann, und dafs diese Umbildung ebenfalls in den Brauereien selbst stattfindet.

Auch andere Verfasser haben sich mit dieser Frage beschäftigt; überzeugende Versuche wurden aber nicht gemacht; man hat mit wirklichen Reinkulturen nicht experimentiert, und in den meisten Fällen wurde es sogar nicht festgestellt, ob die betreffenden Hefezellen zur Gattung Saccharomyces gehörten oder nicht. Die Frage mufste ja auch früher sehr schwierig zu behandeln sein, wenn man sich erinnert, dafs die gemeine Bier-Unterhefe häufig Oberhefe-Arten enthält und umgekehrt. Die Folgerungen, die man in diesen und ähnlichen Richtungen von Beobachtungen im Brauereibetriebe selbst gezogen hatte, mufsten natürlich unter den vorliegenden Umständen ohne Wert sein. Höchstens könnte die Rede davon sein, auf verschiedene Möglichkeiten zu raten, deshalb finden wir auch in der Litteratur, selbst aus der jüngsten Zeit und in einem sonst so bedeutenden Werke wie Pasteurs, widersprechende Ansichten angeführt, ohne dafs es möglich ist, daraus sehen zu können, was das Richtige ist.

Seit dem Anfange des Jahres 1884 habe ich planmäfsige Versuche über diese Fragen gemacht. In allen Fällen wurden absolute Reinkulturen angewendet, und die Zucht in den oft erwähnten zweihalsigen Kolben mit steriler Bierwürze vorgenommen. Die Unterhefe-Arten, mit welchen ich experimentierte, waren Sacch. Pastorianus I, Sacch. ellipsoideus I, Sacch. ellipsoideus II, Carlsberg-Unterhefe Nr. 1 und dto. Nr. 2, nebst einigen anderen im Betriebe geprüften Bier-Unterhefearten. Die Versuche wurden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur angestellt, und die Würze ziemlich oft erneuert, so dafs zahllose Generationen bei einer Temperatur, die sonst Obergärung hervorruft, erzeugt wurden, und in Zwischenräumen wurden sie bei einer noch höheren Temperatur, nämlich 25—30° C. gezüchtet. Obergärungserscheinungen traten indessen nicht ein, sie blieben fortwährend Unterhefeformen; mit einigen Arten wurden diese Versuche über elf Jahre hindurch fortgesetzt.

In der gleichen Weise habe ich auch seit Anfang 1884 meine zwei ausgeprägten Oberhefe-Arten Sacch. cerevisiae I und Sacch. Pastorianus III, aber bei Untergärungstemperatur, 5—7° C. gezüchtet. In diesem Falle wurde die Nährlösung ungefähr alle 14 Tage erneuert. So lange die Kolben bei der angegebenen niedrigen Temperatur standen, war die Gärung sehr schwach, besonders in betreff der erstgenannten Art, und deshalb ohne Anzeichen der Obergärungsphänomene; diese traten dagegen ein, sobald die Kultur bei gewöhnlicher Zimmertemperatur oder

bei 25 ° C. stattfand, und auf dieselbe Weise war immer das Verhalten, auch als die Kolben nach 10jähriger Zucht das letzte Mal geprüft wurden.

Wenn man wünscht, eine geschwächte Oberhefe in den Zustand zurückzuführen, in welchem sie wieder Obergärungsphänomene zeigt, wird man in der Regel schneller das Ziel erreichen, wenn man nicht nur die Kultur bei einer günstigen Temperatur anstellt, sondern zugleich die betreffende Flüssigkeit kräftig lüftet.

Den oben angeführten Gründen zufolge sind die hier beschriebenen Versuche die einzigen bisher ausgeführten, welche Beweiskraft haben, und das Resultat, welches sie gegeben haben, ist also, dafs die Ober- und Unterhefe-Arten nicht, wie einige glauben, unter den oben angegebenen Bedingungen, dazu gebracht werden können, ineinander überzugehen. Dafs die Unterhefe-Arten auch nicht mittels ihrer Hautformen, wie Pasteur anzunehmen scheint, sich in Oberhefe-Formen entwickeln können, habe ich in meiner Abhandlung über die Hautbildung bei der Gattung Saccharomyces gezeigt. Daselbst wird auch besprochen, wie die Unterhefe-Arten nach einer gewissen Behandlung, während einiger wenigen Gärungen Obergärungserscheinungen darbieten können, wonach sie wieder zu den normalen zurückkehren. Vorübergehende Umbildungen können wir, wie gesagt, hervorrufen, bleibende dagegen noch nicht. Ob wir dies aber vielleicht erreichen könnten, wenn wir die Versuche variierten und die Zellen derselben Einwirkung während einer noch längeren Zeit als in den oben beschriebenen Versuchen aussetzten, ist eine andere Frage; hier wird nur von Thatsachen gesprochen, und diese zeigen jedenfalls, dafs solche Umbildungen nicht in einer absehbaren Zeit in den Brauereien stattfinden können. Die Versuche von Reefs und Pasteur können wir uns nicht auf eine andere Weise erklären, als dafs sie mit Mischungen von Ober- und Unterhefe gearbeitet haben müssen, was zu jener Zeit, als die Versuche gemacht wurden, leicht vorkommen konnte.

Die besprochene Oberhefe-Form, Sacch. cerevisiae I, betrug im Jahre 1882 den Hauptbestandteil einer in den Brauereien Edinburgs und Londons allgemein benutzten Hefe; es ist nicht unwahrscheinlich, dafs sie dort noch eine bedeutende Rolle spielt, genaue Untersuchungen darüber habe ich jedoch in den verflossenen Jahren nicht gemacht. Dafs es aufser dieser andere Kultur-Oberhefearten in den englischen und schottischen Brauereien gibt, ist sicher, auch in den dänischen werden verschiedene Arten angewendet.

3. Untersuchungen über Unterhefe-Arten, welche in der Praxis geprüft worden sind.

Nach der Art und Weise, nach welcher meine oben erwähnte Forschung sich entwickelte, mufsten die wilden Hefearten und besonders die, welche Krankheiten im Biere hervorrufen, zuerst untersucht werden und dann die Kultur-Unterhefearten. Wegen der geringen Bedeutung, welche die Obergärung sowohl hier in Dänemark als in den meisten anderen bierbrauenden Ländern hat, wurde den in dieser Fabrikation angewendeten Arten bisher eine geringere Aufmerksamkeit gewidmet; eine ausführliche systematische Untersuchung wurde nur von Sacch. cerevisiae I gemacht.

Noch im Jahre 1881 sprach ich in einer meiner Abhandlungen die Ansicht aus, dafs die in Brauereien angewendete Unterhefe nur aus einer Art, Sacch. cerevisiae, bestehe; dies war damals die allgemeine Meinung. Die verschiedene Weise, auf welche die Hefe zwar auftreten könnte, meinte man, war wesentlich durch die lokalen Verhältnisse bedingt, und man glaubte, dafs die beobachteten Unterschiede leicht ineinander überfliefsen und wieder verschwinden könnten. Man war nach und nach daran gewöhnt worden, über Sacch. cerevisiae wie über eine bestimmte und gut bekannte Gröfse zu sprechen, und als eine solche trat sie auch in den Arbeiten des Carlsberger Laboratoriums bis zu Ende des Jahres 1881 auf. Erst dann gelang es mir, der Frage eine experimentelle Behandlung angedeihen zu lassen. Dadurch bekam ich bald einen ganz anderen Einblick in diese Sache, und das Hauptresultat war, dafs die Ansicht, welche man an den systematischen Namen Sacch. cerevisiae (Unterhefe-Form) geknüpft hatte, unrichtig ist; denn unter diesem Namen wird nicht eine, sondern werden mehrere, sowohl morphologisch als physiologisch verschiedene Formen inbegriffen, welche man mit demselben Rechte, wie es jetzt mit zahlreichen andern, gut charakterisierten Mikroorganismen geschehen ist, mit verschiedenen Artnamen bezeichnen kann.

Ich habe diese Untersuchungen nach den oben angegebenen Prinzipien besonders mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und 2 angestellt. Mit dem ersten Namen wird, wie bekannt, eine bestimmte Art bezeichnet, nämlich die erste reingezüchtete Hefeart, die überhaupt in den Brauereibetrieb eingeführt wurde. Der Name Carlsberger Unterhefe Nr. 2 bedeutet dagegen verschiedene Arten, die nach und nach in Alt-Carlsberg geprüft wurden. Einige Gärungstechniker haben mich ganz mifsverstanden, indem sie glaubten, ich habe bei diesen Namen angeben wollen, dafs sich alle Bier-Unterhefen um diese zwei Typen gruppieren lassen. Wie viele Gruppen oder Typen existieren

mögen, wissen wir noch gar nicht; deren Anzahl dürfte aber eine ziemlich grofse sein. Später haben namentlich A. Jörgensen, Will, P. Lindner, Holm, Poulsen, Windisch, Kukla, Irmisch, Wichmann, Reinke, Lasche, Prior, Bau und Olsen ähnliche Analysen von anderen Brauerei-Unterhefearten gemacht und haben dasselbe Hauptresultat bekommen. Die chemischen Untersuchungen von Borgmann und Amthor stimmen auch hiermit überein.[1])

Wir sehen, dafs einige Arten das liefern, was die Praktiker schöne Gärungen nennen, eine gut entwickelte Schaumdecke, schöne Kräusen und gute Klärung, andere dagegen nicht. Auch rücksichtlich der Attenuation und der Beschaffenheit der Bodensatzhefe treten deutliche Differenzen hervor; dasselbe gilt gleichfalls von dem Geschmacke des fertigen Bieres, sowie von dessen Geruch, Haltbarkeit und dem Vermögen, den Schaum zu halten. Während einige ein Bier mit mildem Geschmacke geben, besonders oft mit einem milderen als das entsprechende Bier, welches mit unreiner Hefe dargestellt wurde, findet man dagegen Arten, die ein Produkt mit einem stärkeren Geschmacke geben, bisweilen wie von Fruchtsäure oder ein wenig bitter. Als bestimmte Beispiele werde ich die Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und eine der mehr ausgeprägten Arten, welche in der Alt-Carlsberg-Brauerei Nr. 2 genannt wird, kurz besprechen.

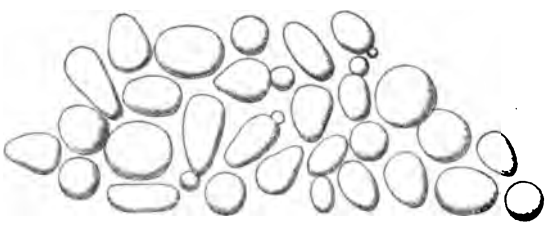


Fig. 18. Vergr. 1000 mal lineär.

In Fig. 18 sind Zellen der Carlsberger Unterhefe Nr. 1 abgebildet, wie sie im Bodensatze einer Würzekultur vorkommen, die wenige Tage bei gewöhnlicher Zimmertemperatur in einem zweihalsigen Kolben gestanden hat, oder in Bodensatzhefe, die am Ende der Hauptgärung aus den Gärbottichen der Brauereien herausgenommen ist. Zwischen den runden und ovalen Zellen findet man viele eiförmige und ganz wenig kurz-wurstförmige; besonders die eiförmige, etwas zugespitzte Zellenform gibt unter den genannten Umständen dieser Art ihren Charakter. Unter Verhältnissen, die für die Sporenbildung günstig sind, wenn von andern bisher untersuchten

[1]) Diese Literatur findet sich teils in Jörgensens Buche »Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie«, dritte Aufl. Berlin 1892, teils in Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg 1882, 1883, 1886 und 1888, in der Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, München 1883—1890, Fresenius Zeitschr. f. analyt. Chemie, XXV. Heft IV 1886 und Zeitschr. f. physiolog. Chemie, XII. 1887.

Arten die Rede ist, bildet diese Art nur äufserst wenige oder gar keine Sporen.

Fig. 19 stellt eine Vegetation der Carlsberger Unterhefe Nr. 2 dar. Die Zellen rechts stammen von einer Gelatinekultur und haben Sporen gebildet; die übrigen Zellen sind unter ähnlichen Verhältnissen wie die der oben beschriebenen Carlsberger Unterhefe Nr. 1 gezüchtet. Carlsberger Unterhefe Nr. 2 zeichnet sich, mit dieser verglichen, durch ihre mehr runden Zellen und durch die hier und da auftretenden Riesenzellen aus. Die Sporenbildung ist hier eine lebhafte.

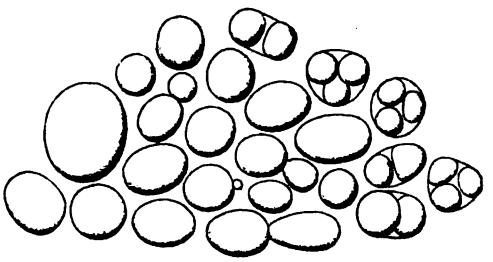


Fig. 19. Vergr. 1000 mal lineär.

Wenn man eine mikroskopische Untersuchung des Zellleninhalts dieser zwei Arten vornimmt, beobachtet man sogleich, dafs das Protoplasma bei der Carlsberger Unterhefe Nr. 2 mehr gleichartig, weniger körnig als bei der anderen Art ist, und dafs die Vacuolen weniger hervortretend sind. In Würzegelatine bilden die Zellen der zwei Arten Vegetationsflecken mit dem für Saccharomyceten gewöhnlichen Aussehen. Die bei den Vegetationen der Bodensatzhefe beobachteten Differenzen traten auch in den genannten Gelatinekulturen hervor; besonders die obenerwähnten Riesenzellen verursachten, dafs die Vegetation der Carlsberger Unterhefe Nr. 2 auch in diesem Falle ein sehr charakteristisches Gepräge bekam. Kurz, es war in den mitgeteilten Fällen leicht, durch eine einfache mikroskopische Untersuchung die zwei Arten von einander zu unterscheiden. Die Figuren lassen die Differenzen der Form und Gröfsenverhältnisse nicht so deutlich hervortreten, wie sie in der Wirklichkeit oft sind, und der beobachtete Unterschied des Aussehens des Zelleninhalts ist gar nicht dargestellt worden. Jörgensen hat in seinem Buche »Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie« 3. Auflage, Berlin 1892 ähnliche Beobachtungen mitgeteilt.[1])

[1]) Man darf nun nicht glauben, dafs die oben erwähnten Differenzen als gemeingültige Charaktere betrachtet werden können, so dafs man mittels dieser im stande sein sollte, festzustellen, ob eine gewisse Hefeart, von welcher man im voraus nichts weifs, eine stärkere oder schwächere Attenuation, eine bessere oder schlechtere Klärung gibt, kurz, ob sie in diesen Beziehungen der einen oder der anderen von den zwei beschriebenen Arten sich näher anschliefst, ob sie Bier von diesem oder jenem Geschmack gibt u. s. w. u. s. w. Hier wird viel mehr als eine einfache mikroskopische Untersuchung gefordert. Vegetationen mit Riesenzellen, wie bei Carlsberger Unterhefe Nr. 2, findet man nicht nur bei gewissen Oberhefe-Arten, sondern auch bei Torula-Arten (siehe z. B. meine Abbildungen in »Compte-rendu des travaux

Wir gehen dann dazu über, zu beschreiben, wie die zwei Hefen sich in der Brauerei verhalten. Die Versuche sind genau unter den-

du laboratoire de Carlsberg« 1883, S. 152), und Unterhefe-Zellen, deren Inhalt ein ähnliches mikroskopisches Bild darbietet wie die Carlsberger Unterhefe Nr. 2, können jedoch in der Brauerei eine starke Attenuation und schlechte Klärung geben.

Zu einer Zeit, als ich mich vorzüglich mit solchen Untersuchungen beschäftigte, bekam ich aus Jörgensens Laboratorium sechs Unterhefe-Arten, deren Eigenschaften durch eine langjährige Prüfung in verschiedenen Brauereien gut bekannt waren. Zwei von diesen waren als schwach attenuierend, zwei als stark attenuierend bezeichnet, und von den übrigen zwei wurde mitgeteilt, dafs sie in betreff der Vergärung zwischen den oben genannten standen Die Differenzen zwischen diesen Arten, welche eine genaue mikroskopische Untersuchung ergab, waren indes schwebend und nicht solcher Art, wie ich sie bei den zwei Carlsberger Unterhefen beschrieben habe. Eine gemeingültige Regel wurde also auch in diesem Falle nicht gefunden, und es ergab sich sogar, dafs Arten mit schwacher und solche mit starker Attenuation dasselbe mikroskopische Bild darboten.

Wir wissen alle, dafs keine der bisherigen Gärungstheorien von Stahl, Liebig, Pasteur, Nägeli u. s. w. die zahlreichen und sehr verschiedenartigen Phänomene erklären können, die wir jetzt mit Sicherheit kennen; Die Wissenschaft hat auf ihrem jetzigen Standpunkte gezeigt, dafs diese Theorien unrichtig sind, ist aber noch nicht so weit gekommen, dafs sie im stande ist, die richtige zu geben. Wenn diese unrichtigen Theorien desungeachtet, in der Regel sogar in Lehrbüchern, die für praktische Brauer geschrieben sind, noch immer figurieren, liegt die Ursache wohl wesentlich darin, dafs es ein alter Schlendrian ist, welchem gefolgt wird. Die Praxis der Gärungsindustrie lernt nichts aus diesen Spekulationen, sie haben nur für die historische Forschung Interesse. Es unterliegt keinem Zweifel, dafs das Studium des Protoplasma der Weg zur Lösung der grofsen Rätsel ist; nicht nur die Wissenschaft, sondern auch die Praxis wird dadurch einst wertvolle Auskünfte bekommen. Ich habe besonders in meinen Untersuchungen über das Verhalten der Alkoholgärungspilze gegenüber den Zuckerarten auf die Hefenzelle als ein günstiges Objekt für solche Untersuchungen verwiesen, und habe auch selbst an der Lösung dieser Aufgaben gearbeitet. Durch eine einfache mikroskopische Untersuchung, wie die oben erwähnte, wird aber nichts erreicht; es sind die feinsten Elementarteile des Protoplasma und der Zellenwand, gegen welche der Angriff gerichtet werden mufs; unsere Aufgabe mufs diese sein, in dem Bau und der Zusammensetzung der Zelle Ausdrücke für die Funktionen zu finden.

Erst in der jüngsten Zeit sind wir mit Hülfe der hochentwickelten Technik der modernen Wissenschaft (in mikroskopischer, chemischer und physikalischer Richtung) in den Stand gesetzt, mit solchen Untersuchungen überhaupt einen Anfang zu machen, und wir haben auf diesem Gebiete bisher nicht viele Resultate von allgemeiner Bedeutung zu verzeichnen. In betreff der oben berührten gärungsphysiologischen Grundprobleme müssen wir sogar zugestehen, dafs eigentlich noch gar nichts ausgerichtet worden ist. Dies gilt, wenn von den wirklich wissenschaftlichen Untersuchungen die Rede ist; durchmustern wir aber die halbwissenschaftliche Litteratur, die selbstgefällig und mit grofser Reklamation sich während der letzten zehn Jahre in einigen zymotechnischen Zeitschriften breit macht, dann werden wir nicht wenige Publikationen finden, in welchen es angekündigt wird, dafs diese Rätsel von den betreffenden Verfassern gelöst worden sind. Sie verkündigen, wie es ihnen möglich geworden ist, mittels einer einfachen

selben Verhältnissen in der Brauerei Alt-Carlsberg gemacht worden, so dafs ein Vergleich stattfinden kann, und gerade mit Bieren, welche mit diesen zwei Arten bereitet wurden, hat Borgman seine oben erwähnten chemischen Untersuchungen gemacht.

Nr. 1 gibt eine ziemlich dünne Schaumdecke, niedrige, unansehnliche Kräusen, starke Vergärung und eine langsame und ziemlich schlechte Klärung, eine lockere und etwas schleimige Bodensatzhefe, die für die Hefereiniger einen nur geringen Wert hat; auch in dem Lagerkeller findet die Klärung nur langsam statt.

Nr. 2 dagegen gibt eine starke Schaumdecke, schöne Kräusen, schwache Vergärung, schnelle und vorzügliche Klärung, eine festliegende, breiartige Bodensatzhefe, welche von den Hefereinigern sehr gesucht ist, und eine schnellere Klärung in dem Lagerkeller. Das Bier von diesen beiden Hefearten hat einen feinen, guten Geschmack, aber dasjenige von Hefe Nr. 2 ist vollmundiger, reicher an Kohlensäure und hält den Schaum besser; das Bier von Nr. 1 dagegen ist weit mehr haltbar. Wenn es in Flaschen abgezapft wurde, welche dann bei gewöhnlicher Zimmertemperatur in einem dunklen Schranke aufbewahrt wurden, hatte selbst nach drei Wochen sich noch keine merkbare Bodensatzhefe gebildet, wenn dagegen das Bier von Nr. 2 auf dieselbe Weise behandelt wurde, war es oft schon nach 10 Tagen wegen der reichlichen Hefebildung untrinkbar.

Die Gärungen der Carlsberger Unterhefe Nr. 1 haben immer bei den Brauern, welche die Gärkeller in den Brauereien Alt- und Neu-Carlsberg besucht haben, Erstaunen erweckt; es ist nämlich eine Hefe, welcher es an allen äufseren Merkmalen fehlt, die der praktische Brauer von einer guten Brauereihefe fordert, und doch gibt sie ein gutes und besonders ein aufserordentlich haltbares Produkt. Diese letztgenannte Eigenschaft hat namentlich eine grofse Bedeutung, wenn das meiste Bier, wie es in Dänemark der Fall ist, als Flaschenbier verkauft werden soll.

---

mikroskopischen Untersuchung der Hefezellen voraussagen zu können, wie die Zelle im Brauereibetriebe arbeiten wird, wie die Vergärung des Bieres, die Klärung, der Geschmack, die Haltbarkeit u. s. w. u. s. w. ausfallen werden. Diese Art von Forschung sieht in ihrer unbefangenen Unwissenheit gar nicht die Schwierigkeiten, mit welchen wir anderen immer zu kämpfen haben, und weil sie keine Ahnung davon haben, welche grofse Summen von Vorarbeiten in den Werken solcher Forscher wie Strafsburger, Wiesner, Zacharias, Flemming, Zimmermann, F. Schwarz, Pfeffer, Schmitz und mehreren andern sich verbergen, lassen sie ganz ruhig die ganze Litteratur bei Seite liegen und wandern kühn mit ihren eigenen »Entdeckungen« weiter fort.

Die halbwissenschaftliche Litteratur ruft grofse Verwirrung und viel Schaden hervor. Meine oben mitgeteilten Beobachtungen und Bemerkungen sind als warnende Worte gegen sie gerichtet.

Dafs die Vergärung für sich allein diesen Unterschied in der Haltbarkeit zwischen den zwei erwähnten Hefearten nicht bedingt, folgt daraus, dafs Bier von Hefe Nr. 2, welches bei langer Lagerung eine ebenso starke Vergärung, wie das entsprechende Bier von Hefe Nr. 1 erreicht hatte, doch immer in der genannten Richtung weit hinter diesem steht.

Auf diese beschriebene Weise traten die zwei Hefen in allen den Brauereien, wo sie geprüft wurden, immer auf; die hervorgehobenen Hauptcharaktere waren in allen Fällen dieselben.

In betreff des Ausdruckes Haltbarkeit wird hier nur an die gebildete Bodensatzhefe und nicht an die Bakterienkrankheiten gedacht. Wenn wir die Sache genauer betrachten, finden wir, dafs die Bodensatzhefe teils aus der Kulturart, welche für sich allein die ganze Gärung durchgeführt hat oder vom Anfange im Übergewicht gewesen ist, teils aus wilden Hefearten gebildet werden kann. Wir sehen dann von den Fällen ab, in welchen mehrere Kulturarten zusammen gearbeitet haben. Eine Hefeart, welche haltbares Bier liefern soll, mufs die Eigenschaft haben, dafs sie sich im fertigen Lagerbiere nur im geringen Grade vermehrt und während der Gärung die Konkurrenten zurückzuhalten vermag. Den wesentlichsten Grund, warum gewisse Arten sich in der letztgenannten Richtung auszeichnen, mufs man in einigen Fällen darin suchen, dafs sie auf eine kräftigere Weise als die Konkurrenten im stande sind, sich die Ernährungsbedingungen, besonders den Sauerstoff, zuzueignen, in anderen dagegen hauptsächlich darin, dafs sie während ihrer Vermehrung Stoffe ausscheiden, die als Gifte wirken.

Wenn vergleichende Proben über die Haltbarkeit in dem Sinne, in welchem wir sie oben genommen haben, gemacht werden sollen, müssen die betreffenden Biere klar sein und dürfen nur eine geringe Menge Hefezellen enthalten; streng genommen wird eigentlich gefordert, dafs deren Zahl in den Proben dieselbe sein soll. Es gibt, wie erwähnt, Unterhefe-Arten, die ein sehr haltbares Bier geben, aber eine langsame Klärung im Lagerkeller zeigen, und umgekehrt zeigen mehrere der Arten, deren Biere nicht haltbar sind, eine schnelle Klärung im Lagerkeller. Zu einer Zeit, in welcher die Biere der letztgenannten Arten bereits blank sind, findet man oft in erstgenannten Bieren noch eine unendliche Menge von Hefezellen, und dieser Umstand genügt, um zu bewirken, dafs diese Biere auf dem beschriebenen Stadium minder haltbar als die anderen sind, obwohl nach beendeter Lagerung sie bei weitem haltbarer werden.

4. Über die Variation.

Die Charaktere, welche uns zur Unterscheidung der verschiedenen Tier- und Pflanzenarten zu Gebote stehen, haben thatsächlich keine absolute Gültigkeit, sondern erweisen sich nur unter gewissen Bedingungen als konstant. Es wurde die Lehre von der Variation namentlich in den epochemachenden Werken Darwins dargestellt. Die gröfste und schwierigste Arbeit ist jedoch übrig geblieben, nämlich die Feststellung der Faktoren, welche hierbei thätig sind, um dadurch am Ende die Gesetze zu ermitteln, welchen die Variation unterliegt.

Schon in einigen meiner ersten Studien über die Saccharomyces-Arten (1883) machte ich darauf aufmerksam, wie unter verschiedenen Verhältnissen Variationen eintreten können, und ich gab allmählich eine Reihe Mitteilungen hierüber, besonders in meinen oben citierten »Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der Alkoholgärungspilze«.

Die Umbildungen können teils von einer mehr oder weniger flüchtigen Natur, teils konstant sein; im letzten Falle der Art, dafs sie sich durch endlose Generationen und unter verschiedenen Züchtungsverhältnissen fortpflanzen. Indem ich im folgenden Beispiele hervorhebe, die in beide der genannten Richtungen passen, habe ich aus meinen Untersuchungen eben solche gewählt, die nicht nur für den Theoretiker, sondern zugleich für den praktischen Gärungstechniker von Interesse sein können. Diejenigen, welchen weitere Aufschlüsse erwünscht sind, verweise ich übrigens auf meine im Nachfolgenden citierten Abhandlungen.

Wünschen wir eine Stellhefe zum Gebrauche in der Industrie darzustellen, so genügt es nicht, dafs sie eine absolute Reinkultur der gewünschten Heferasse ist, sie mufs zugleich dazu im stande sein, entweder gleich, oder in jedem Falle nach sehr kurzer Zeit auf normale Art und Weise im Betriebe arbeiten zu können. In den Brauereien spielt die Frage über Klärung und Attenuation eine grofse Rolle. Eine schlechte Klärung und eine starke Attenuation begleiten wenigstens in vielen Fällen einander. Je nach der Behandlung im Laboratorium kann dieselbe Heferasse dazu gebracht werden, eine gute oder eine schlechte Klärung in der Brauerei zu geben; sie kann hier ziemlich verschiedenartig auftreten, je nach den Ernährungsverhältnissen, unter welchen die zahllosen Zellengenerationen, aus denen sie besteht, gezüchtet wurden. Ich werde mich jedoch nicht in allgemeine Betrachtungen über die interessanten theoretischen Möglichkeiten vertiefen, die sich hier der Spekulation darbieten, sondern in aller Kürze einige der wichtigsten Resultate, die meine Versuche gebracht haben, mitteilen.

Als ich im Jahre 1883 meine Versuche in der Brauerei mit derjenigen Art anfing, die ich Carlsberger Unterhefe Nr. 1 genannt habe, ergab es sich sogleich, dafs ich ein schlechtes Resultat bekam, wenn die Hefe in einer nicht gelüfteten Würze gezüchtet worden war. Falls die Würze nicht gleich nach der Sterilisierung gelüftet wird, mufs man daher die betreffenden Kolben längere Zeit in Ruhe stehen lassen, indem die Würze dann nach und nach von der Luft beeinflufst wird, die sehr langsam durch das gebogene Rohr oder durch den Stöpsel aus Baumwolle, mit welchem diese Kolben versehen sind, hineindringt. Ich habe schon darauf aufmerksam gemacht, von welcher Wichtigkeit es sein kann, dafs wir auch im Laboratorium die erste Portion Stellhefe in gut gelüfteter Würze züchten. Die nachfolgenden Versuche wurden im Jahre 1884 ausgeführt und später im laufenden Jahre wiederholt. Sie wurden teils mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1, teils mit Carlsberger Unterhefe Nr. 2, beide in Reinkulturen, ausgeführt. In der einen Versuchsreihe wurde nicht gelüftete, in der anderen normal gelüftete Würze angewendet; sie war sterilisiert und dieselbe, welche für das gewöhnliche Lagerbier benutzt wird (13,5 % Ball.); sie befand sich in Pasteurschen Gefäfsen, jedes mit 1½ hl versehen, die in einem Zimmer standen, wo die Temperatur 10—12° C. war. Jede Hefenart wurde für sich in einem Gefäfse angebracht, die Stellhefe jedes Gefäfses betrug ½ kg in ziemlich dickflüssigem Zustande. In allen Fällen wurde die Klärung schlecht; die erzeugten Hefen verhielten sich dagegen in den zwei Versuchsreihen verschieden. Die Hefe, welche in der auf gewöhnliche Weise gelüfteten Würze gezüchtet wurde, gab gleich in der ersten oder zweiten Gärung in der Brauerei die für die betreffende Art gewöhnliche Klärung und Attenuation. Die Hefe, welche in der nicht gelüfteten Würze gezüchtet war, verhielt sich dagegen auf eine ganz andere Weise, dies gilt besonders von der Carlsberger Unterhefe Nr. 1. Diese gab nämlich immer während zahlreicher Gärungen in den Bottichen der Brauerei eine sehr schlechte Klärung und eine ungewöhnlich starke Vergärung. Eine Verbesserung trat wohl nach einiger Zeit ein, es gelang aber nicht, die Hefe zu ihrem gewöhnlichen Zustande zurückzuführen, in welchem sie sich zu Anfang des Versuches befand. Die Carlsberger Unterhefe Nr. 2 gab wohl auch unter diesen Umständen im Anfang eine schlechtere Klärung als gewöhnlich; nach kurzer Zeit aber (zwei Hauptgärungen in den Gärbottichen der Brauerei) war sie wieder zu ihrem normalen Zustande zurückgekehrt und arbeitete, wie die Brauerei es wünschte. Die Einwirkung, welcher die Zellen in den zwei Versuchsreihen mit gelüfteter und mit nicht gelüfteter Würze ausgesetzt waren, ging also in betreff der zwei Hefearten in

dieselbe Hauptrichtung. Die Zellen, welche in der nicht gelüfteten Würze gezüchtet wurden, haben jedenfalls eine zeitlang die Fähigkeit verloren, unter Brauereiverhältnissen auf normale Weise zu arbeiten. Der Speciesunterschied trat indessen deutlich hervor, indem die Carlsberger Unterhefe Nr. 2 sehr schnell zum normalen zurückkehrte, die Carlsberger Unterhefe Nr. 1 dagegen nicht. Die letzterwähnte Hefe macht überhaupt ziemlich häufig Schwierigkeiten im Betriebe in Rücksicht auf die Klärung.

Um ein gutes Resultat in der genannten Richtung zu bekommen, scheint es, wenigstens in den meisten Fällen, von besonderer Wichtigkeit zu sein, dafs die betreffende Würze namentlich bei den hohen Temperaturen gelüftet wird. Allgemeingültige Regeln über diese Verhältnisse können wir, so wie ich es anderswo bemerkt habe, leider noch nicht aufstellen. Meine Absicht war nur, zu zeigen, wie Umänderungen in nicht gewünschter Richtung bei den Brauerei-Hefenarten zum Vorschein kommen können, wenn die Würze, in welcher die Hefe gezüchtet wird, nicht auf passende Weise gelüftet worden ist.

In dieser Verbindung mag es richtig sein, die Leser daran zu erinnern, dafs eine Hefevegetation sich nicht wie eine gleichartige chemische Masse verhält, sondern dafs sie im Gegenteil aus Individuen besteht. Diese sind, wie es überall bei den Organismen der Fall ist, mehr oder weniger verschieden. Diese individuellen Differenzen können sich auch in einer gröfseren oder geringeren Fähigkeit, eine gute Klärung zu geben, darthun. Indem wir bei der Darstellung unserer Reinkulturen von einer einzigen Zelle den Ausgangspunkt nehmen, bekommen wir Vegetationen, welche die innerhalb der Art sich befindenden individuellen Eigentümlichkeiten repräsentieren. Wenn wir diese Vegetationen jede für sich prüfen, werden wir oft dazu im stande sein, eine Heferasse hervorzuzüchten, welche sich besonders dadurch auszeichnet, eine gute Klärung zu geben.

In der ersten deutschen Ausgabe (1888) gab ich schon Mitteilungen über andere individuelle Eigentümlichkeiten, die bei der Brauerei-Unterhefe auftreten können. Ich werde hier von denjenigen sprechen, welche sich in der Form der Zellen kundgeben. Von diesem Standpunkte aus hat die Frage auch eine praktische Bedeutung, wenn wir Reinkulturen darstellen sollen. Nach dem von mir angegebenen Verfahren gehen wir immer von einer einzigen Zelle aus. Denken wir uns also, dafs wir auf diese Weise eine absolute Reinkultur z. B. von Carlsberg-Unterhefe Nr. 1 bekommen haben. Ich nehme eben diese Art, weil die meisten meiner Versuche mit ihr ausgeführt wurden. Einige Zellen dieser Reinkultur schütteln wir in Würzegelatine aus und breiten dann eine Schicht davon an der Unterseite

des an der feuchten Kammer befestigten Deckglases; darauf markieren wir die Zellen, deren Lage eine solche ist, dafs jede für sich ihren makroskopisch sichtbaren Vegetationsfleck bilden kann, ohne mit anderen, die in der Nähe liegen, zusammenzuschmelzen. Diese Flecken, von welchen wir folglich mit Sicherheit wissen, dafs jeder sich aus einer einzigen Zelle entwickelt hat, sind oft sehr verschieden, indem einige aus Zellen bestehen, die wegen ihrer wurstförmigen und langgestreckten Form nach Reefs als Sacch. Pastorianus zu bestimmen sind, während andere die Form haben, unter welcher wir uns gewöhnlich nach früherer Anschauung Sacch. cerevisiae denken. Und doch gehören beide derselben Art an, stammen beide aus der Aussaat einer einzigen Zelle.[1]) Werden von diesen Flecken einige Kolben mit Würze infiziert, so dafs jede der einen Reihe nur Zellen aus einem Flecke bekommt, welcher die pastoriane Form enthält, und jede der anderen Reihe nur Zellen aus einem Flecke mit der Cerevisiae-Form, so zeigen die Vegetationen, die wir in der Würze bekommen, dieselbe Differenz; wenn man aber die Zucht fortsetzt, wird der Unterschied zwischen den zwei Reihen immer geringer, indem die wurstförmigen Zellen nach und nach verschwinden, so dafs alle Vegetationen am Ende nur aus ovalen bestehen. In einem Versuche hatten jedoch erst nach sieben solchen Züchtungen die ovalen Zellen ein Übergewicht in den Kolben bekommen, in welchen die ursprüngliche Aussaat aus wurstförmigen bestand. Dies dauerte ungefähr zwei Monate. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, dafs von der unmittelbar vorhergehenden Kultur eine sehr kleine Durchschnittsprobe der Bodenhefe in die folgende übergeführt wurde. Dafs man immer Sorge dafür trug, die Reinkulturen vor Infektion zu schützen, ist selbstverständlich. Während die wurstförmigen Zellen noch in bedeutendem Übergewicht waren, brachte ich eine Portion in den früher beschriebenen Reinzuchtapparat im Gärkeller Alt-Carlsbergs hinein. Schon nach zehn Tagen hatte sie eine Vegetation gebildet, welche hauptsächlich aus ovalen Zellen bestand, und wenn diese als Stellhefe einem gröfseren Gefäfse zugesetzt wurden, bildete sich sogleich eine typische Hefe von ovalen Zellen. Die ovale Form wurde auf eine ähnliche Weise im Betriebe geprüft, auch hier blieb sie immer oval. Beide gaben Biere von derselben Beschaffenheit, und sie bewiesen folglich auch dadurch, dafs sie derselben Art angehörten.

[1]) In früheren Abhandlungen habe ich auch darauf hingewiesen, dafs Flecken in Würzegelatine, welche von derselben Saccharomyces-Art stammen, dennoch ein verschiedenes Aussehen haben können, wenn man sie mit blofsen Augen oder mittels schwacher Vergröfserung betrachtet.

Aus diesen Versuchen lernen wir, dafs zwischen den Eigenschaften, welche den einzelnen Zellen (Individuen) innewohnen, ein Unterschied war, und folglich geben unsere mikroskopischen Untersuchungen der Hefeflecken in der Würzegelatine ebensowenig wie die damit angestellten ersten Würzekulturen uns sichere Aufschlüsse über die betreffende Art. Dies ist ein neuer Beweis dafür, welchen geringen Wert die mikroskopische Untersuchung für sich allein hat, wenn von der Analyse einer Hefenprobe die Rede ist. (Man legt noch, sowohl in den Brauereien wie in den Prefshefenfabriken, ein zu grofses Gewicht auf das mikroskopische Bild der Hefezellen.) Ferner zeigen uns die neuen Versuche, dafs wir, falls wir wünschen, die Reaktion der Zellen gegenüber äufseren Einwirkungen als Artmerkmale zu benutzen, niemals ausschliefslich von der Reaktion der einzelnen Zelle ausgehen dürfen, sondern die Summe der Reaktionen zahlreicher Zellen nehmen müssen. Andere Brauerei-Unterhefearten geben unter den angegebenen Verhältnissen ähnliche Resultate.

Zur Beleuchtung des nebenbei erwähnten Problems kann noch folgender Versuch mitgeteilt werden: Wenn wir Plattenkulturen mit Würzegelatine machen, sehen wir häufig, dafs zwei oder mehrere Zellen so dicht beieinander liegen, dafs sie durch ihre Sprossung bald zusammen einen einzigen Fleck bilden. Ein solcher kann natürlicherweise nicht angewendet werden, wenn es sich darum handelt, eine Reinkultur darzustellen. Sobald wir aber, wie in vorliegendem Falle, mit der Reinkultur selbst anfangen, werden selbstverständlich Flecken der obengenannten Beschaffenheit ebensogut wie die, welche jeder für sich aus einer einzigen Zelle entstanden sind, Reinkulturen enthalten, und alle Flecken überhaupt, vorausgesetzt, dafs fremde Mikroorganismen sich nicht einschleichen, aus einer Art bestehen. Halten wir uns nun gerade an die Flecken, von welchen jeder ursprünglich aus mehreren Zellen gebildet wurde, werden wir öfters eine gröfsere Anzahl finden können, deren Vegetationen unter dem Mikroskope einander ähnlich sind, indem sie aus einer Mischung von ovalen und wurstförmigen Zellen bestehen; infizieren wir aber eine entsprechende Anzahl von Kolben mit Würze, jeden von seinem Flecke, können wir in diesen jedoch zwei Reihen ziemlich verschiedener Vegetationen erhalten, in der einen mit den Pastorianen, in der andern mit den Cerevisiae-ähnlichen Formen im Übergewicht. Indem wir wissen, dafs jeder der Flecken in den Gelatinekulturen ursprünglich von mehreren Zellen gebildet wurde, ist es am meisten wahrscheinlich, dies so zu erklären, dafs die zwei Zellenformen in einem verschiedenen Verhältnis in der Aussaat, welche die Kolben bekommen haben, gegenwärtig gewesen sind, oder wenn dies nicht der Fall wäre, dafs die eine

Zellenform kräftiger als die andere während der stattfindenden Konkurrenz wäre. In diesem Falle war der Unterschied nicht so scharf, wie im zuerst beschriebenen, und bei fortgesetzter Kultur in Würze ist er ganz und gar verschwunden, indem auch hier die neugebildeten Zellen die ovale Form angenommen haben.

Über eine noch weitergehende Umbildung der gewöhnlichen Zellen der Bier-Unterhefe zu langgestreckten, wurstförmigen, unter Einfluſs einer bestimmten Temperatur, habe ich schon in einer meiner oben citierten Abhandlungen von 1883 Aufschlüsse gegeben. Weil dieses Verhalten aber keine praktische Bedeutung hat, wird es hier nicht besprochen.

Auf mehreren verschiedenen Wegen ist man im stande, derart auf Hefezellen einzuwirken, daſs dieselben in dem einen Falle mehr Alkohol, im anderen weniger bilden als die Stammform.

Saccharomyces Pastorianus I ist, wie oben erwähnt, eine der Krankheits-Hefenarten des Bieres, indem dieselbe dem Biere einen häſslichen Geruch und unangenehmen bitteren Geschmack verleiht. Nach Untersuchungen von Mach und Portele gibt sie jedoch einen guten Wein, und meine Versuche haben dargethan, daſs man bei Züchtung dieser Art durch zahlreiche Generationen in einer Lösung von Saccharose in Hefewasser eine Vegetation bekommt, deren Zellen vorläufig die genannten unliebsamen Eigenschaften verloren haben. Wir ersehen hieraus, daſs es möglich ist, derart auf die Hefezellen einzuwirken, daſs dieselben den gärenden Getränken einen von dem früheren verschiedenen Geschmack und Geruch, andere Bouquetstoffe, verleihen. Umbildungsversuche nach dieser Richtung hin dürften besonders bei der Weinbereitung praktische Bedeutung erlangen.

Die meisten der oben erwähnten Umbildungen sind ziemlich flüchtiger Natur und verschwinden nach kürzerer oder längerer Zeit, auch wenn die Züchtung in Würze vor sich geht. Eine tiefergehende Umbildung, und zwar von längerer Dauer, erreichte ich in meinen Versuchen namentlich mit der neuen Hefeart, die ich Sacch. Ludwigii genannt habe (Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde 1889. S. 632. Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1889. S. 253). Durch ein planmäſsiges Auswählen von einzelnen Zellen, jede für sich in ihrer Kultur, gelang es mir, diese Art in drei verschiedene Vegetationsformen zu zerspalten. Wenn dieselben, jede für sich abgesondert, in Würze kultiviert wurden, zeichneten sie sich dadurch aus, daſs eine in einer normalen Sporenkultur zahlreiche Sporen entwickelte, die zweite dagegen sehr wenige und die dritte gar keine.[1]) Nachdem von der letzteren Form zahlreiche Generationen

[1]) Ähnliche Resultate habe ich auch mit Brauerei-Hefearten bekommen.

in Bierwürze sowohl bei Zimmertemperatur als bei 25° C. und zwar unter den Ernährungsbedingungen, welche gewöhnlich für die Zellen günstig sind, wenn es sich um Sporenbildung handelt, gezüchtet worden waren, hat sie gleichwohl keine Sporen, weder auf feuchter Gelatine noch auf einem feuchten Gypsblocke, gebildet. Erst dann, als ich die Züchtung in Bierwürze sehr lange fortgesetzt hatte, erhielt ich nach und nach Vegetationen, welche wieder Sporen bildeten, aber niemals in grofser Anzahl. Wenn dagegen die Kultur in einer Lösung von Dextrose (10%) in Hefewasser unternommen wurde, wurden hier sogleich neue Generationen erzielt, deren Zellen aufs neue eine reiche und kräftige Sporenbildung gaben. Um die Zellen zu ihrem normalen Zustande zurückzubringen, war die neue Nährlösung notwendig.

Wir wollen nun Fälle betrachten, in welchen die Umbildung wirklich fixiert wurde und sich in den neuen Generationen immer und immer wiederholte. In meiner soeben citierten Abhandlung habe ich die hauptsächlichen Resultate meiner Versuche über Sacch. Pastorianus I mitgeteilt. Es zeigte sich, dafs die Zellen dieser Art, wenn sie während eines längeren Zeitraumes in gelüfteter Würze nahe ihrem Temperaturmaximum kultiviert wurden, dermafsen beeinflufst wurden, dafs sie das Vermögen, Sporen zu bilden, vollständig verloren, und nachdem zahllose Generationen von vegetativen Zellen bei günstigen Temperaturen in neuen Würzekulturen sich gebildet hatten, vermochte dennoch keine unter ihnen diese Vermehrungskörper zu entwickeln. Somit ist in diesem Falle eine Eigenschaft, welche in Bezug auf Morphologie und Systematik eben sehr wichtig ist, gründlich geändert worden. Gleichzeitig mit dem Verluste der Fähigkeit, Sporen zu bilden, ist auch das Vermögen, eine Hautbildung in Würzekulturen hervorzurufen, verloren gegangen.

Die Behandlung, welche die Zellen erfahren müssen, um eine solche tief einschneidende Umbildung zu erleiden, bringt in der That eine Umwälzung in ihren Lebensvorrichtungen hervor. Dafs eine lange Fortsetzung dieser Behandlung erforderlich ist, kann man leicht begreifen, wenn man sich daran erinnert, mit welcher Zähigkeit die Zellen der Saccharomyceten ihre Fähigkeit, Sporen zu erzeugen, selbst unter den Bedingungen bewähren, wo sie sich doch nur durch Sprossung in zahllose Generationen vermehren können, wie in den Brauereien und Brennereien.

Mit verschiedenen anderen Arten habe ich später ähnliche Resultate erhalten (Annales de Micrographie, Fevrier 1890. Zeitschr. f. das ges. Brauwesen 1890 S. 145). In Bierwürze zeigt eine Gruppe von ihnen eine schnellere und stärkere Vermehrung aber eine langsamere Vergärung als ihre Stammformen. Zu dieser Gruppe gehören auch einige

Bierhefen, z. B. die früher beschriebene Carlsberger Unterhefe Nr. 2. Nachdem diese Art durch die oben angegebene Behandlung zu dem Punkte gebracht war, dafs die Fähigkeit, sowohl Sporen zu bilden als eine Hautbildung hervorzurufen, vollständig verloren gegangen war, stellte ich unter Brauereiverhältnissen sowohl mit dieser Varietät als mit der ursprünglichen Hefe, aus welcher sie herabstammte, vergleichende Versuche an. Es ergab sich dann, dafs die neugebildete Varietät während der Hauptgärung eine langsamere und schwächere Vergärung als die ursprüngliche Hefe, gleichzeitig aber eine verhältnismäfsig bessere Klärung gab. Nach einer normalen Lagerung war die angegebene Differenz in der Attenuation nach und nach beinahe verschwunden. Das von der Varietät produzierte Bier bot in der Regel eine etwas bessere Klärung und immer eine geringere Haltbarkeit dar (das Wort in dem oben angegebenen Sinne genommen), als dasjenige, welches von der ursprünglichen Stammform produziert war.

Es sind nun mehrere Jahre verflossen, seitdem es mir gelungen ist, die ersten Varietäten (oder möglicherweise sogar neue Arten) von Saccharomyces darzustellen. Obwohl sie seitdem unter sehr verschiedenen Verhältnissen kultiviert wurden, haben sie sich konstant erhalten; die neu erworbenen Eigenschaften haben sich in den vielen Generationen als erblich gezeigt.[1])

Werfen wir einen Blick auf die in diesem Kapitel besprochenen Studien zurück, so sehen wir, dafs folgende Umstände die Wege bestimmt haben, auf welchen sie sich vorwärts bewegen müssten: Um feste Ausgangspunkte zu erhalten, war es in erster Reihe notwendig mit absolut sicheren Reinkulturen zu experimentieren; ich habe deshalb die S. 4 besprochenen Methoden ausgearbeitet, bei welchen ich immer von der einzelnen Zelle ausgegangen bin. Meine zweite Aufgabe musste diejenige sein, näher zu untersuchen, ob die auf diese Weise erhaltenen Vegetationen Differenzen darboten und in solchem Falle ferner zu bestimmen, in welchen sie bestanden. Weil die Merkmale zur Erkennung der Spezies, die von meinen Vorgängern angegeben waren, unrichtig sind, mussten neue von mir entdeckt werden, und ich ging hierbei immer von botanischen Gesichtspunkten aus. Es war nothwendig, diese Studien erst ganz und gar durchzuführen, ehe eine experimentelle Untersuchung über die verwickelten Fragen der Variationserscheinungen mit Erfolg in Angriff genommen werden konnte. Gelegentlich waren von mir schon seit 1882 zwar dann und

[1]) In einer besonderen Abhandlung, mit deren Ausarbeitung ich zur Zeit beschäftigt bin, werde ich eine ausführliche Darstellung von den oben erwähnten Variations-Erscheinungen, sowie von den sich dabei beteiligenden Faktoren und Gesetzen geben.

wann Untersuchungen in der letztgenannten Richtung vorgenommen worden, aber erst im Jahre 1888 waren meine Arbeiten so weit vorgeschritten, dafs ich dies neue Problem als eine Hauptaufgabe in meinen Arbeitsplan aufnehmen konnte. Damit ist jedoch gar nicht gesagt, dafs ich nun meine ältere Studienrichtung aufgegeben habe.

Durch die oben mitgeteilten Untersuchungen über die Variation sind wieder neue Bahnen für das Studium der Saccharomyceten geöffnet worden. Die bisher erreichten Resultate sind wohl vorläufig wesentlich von theoretischem Interesse, einige haben doch schon direkt in die Praxis der Gärungsindustrie hineingegriffen. Was in der Gärtnerei und der Landwirtschaft längst errungen ist, wird auch hier erreicht werden und zwar mit einem tieferen Verständnis der wirksamen Faktoren; denn der einzellige Organismus ist ein bei weitem günstigeres Objekt für solche Experimente als die höher entwickelten Blütenpflanzen.

Selbst aber, wenn wir einmal so weit gekommen sind, dafs wir mit grofser Sicherheit die Einwirkung verschiedener chemischer und physischer Faktoren festsetzen können und dazu im stande sind, die Umbildungen in die gewünschten Richtungen zu lenken, so wissen wir dennoch gar nicht, was es eigentlich in den Zellen selbst ist, welches bewirkt, dafs die Änderungen eintreten können, oder dafs diese oder jene Arbeit ausgeführt wird. Diese grofsen Probleme führen uns wieder in neue Studienrichtungen hinein, und besonders werden wir auf Untersuchungen von dem Protoplasma verwiesen, als den Weg, auf welchem auch diese Rätsel einmal ihre Lösung finden werden. Jede Aufgabe ruft immer eine gröfsere und schwierigere hervor, Ruhe und Stillstand kennt die Wissenschaft nicht.

5. Hauptergebnis.

Sowohl die theoretischen Untersuchungen im Laboratorium als die rein praktischen im Betriebe selbst, haben uns also gelehrt, dafs es verschiedene Saccharomyces-Arten gibt, und zwar nicht nur die sog. wilden Hefenarten, sondern auch gut charakterisierte Ober- und Unterhefe-Arten, die in den Brauereien angewendet werden. Verschiedenen äufseren Einwirkungen ausgesetzt, können sie in hohem Grade variieren, wenn sie aber hierauf längere Zeit hindurch unter den ursprünglichen Verhältnissen kultiviert werden, kehren sie in den meisten Fällen in den früheren Zustand zurück. Durch eine tief eingreifende Behandlung und zwar sogleich durch lange Fortsetzung derselben kann man jedoch neue Arten oder Varietäten, deren neu erworbene Eigenschaften in den verschiedenen Kulturen erblich sind, bilden. So lange die

Hefen unter den in Brauereien obwaltenden Verhältnissen gezüchtet wurden, zeigten sie nur kleine Schwankungen. Daraus folgt, dafs wir in der Praxis sie als konstante Arten betrachten und unsere Methode darauf einrichten können und müssen.

III.

Über die praktische Untersuchung des Bieres in den Lagerfässern rücksichtlich seiner Haltbarkeit.

Die Lehrbücher über die Bierfabrikation enthalten entweder gar nichts oder höchstens einige wenige Andeutungen über diese Frage. Sie scheint auch auf den ersten Blick so einfach zu sein, dafs sie einer etwas eingehenderen Behandlung nicht bedarf; wenn wir aber länger darüber nachdenken, werden wir bald erfahren, dafs sie von mehreren Seiten betrachtet werden kann, und dafs wir uns in der That auf einem unsicheren Boden bewegen. Die nachfolgende Abhandlung ist ein unveränderter Abdruck der ersten deutschen Ausgabe von 1888.

Die darin enthaltenen Untersuchungen wurden im Anfange des Jahres 1883, somit zu einer Zeit ausgeführt, als meine reingezüchteten Hefearten noch nicht in dem Brauereibetrieb Eingang gefunden hatten. Die Biere, von welchen die Rede ist, wurden in allen Fällen vermittelst unreiner Hefe hergestellt und waren untergärige. Ein grofser Teil des Materials wurde mir gütigst von Herrn Brauereidirektor Kapt. Kühle zur Bearbeitung überlassen, und meinem Ansuchen entsprechend hat Herr Laboratoriumsvorstand, Prof. Grönlund einige Untersuchungen in derselben Weise auf Neu-Carlsberg gemacht, wie diejenigen, welche ich selbst auf Alt-Carlsberg darüber vorgenommen habe, welchen Einfluſs es hat, ob die betreffende Bierprobe gelüftet wird oder nicht, und ob sie gewöhnlicher Zimmertemperatur oder ob sie einer Temperatur von 25—27° C. ausgesetzt wird. Den beiden Herren sage ich dafür meinen besten Dank. Es war von Anfang an meine Absicht, die erreichten Resultate in der gegenwärtigen neuen Reihe meiner Untersuchungen, wozu sie ja auch ihrer Natur nach gehören, mitzuteilen. Da aber die Veröffentlichung derselben wegen anderer Arbeiten bis 1888 aufgeschoben werden mufste, so war dasselbe auch mit den vorliegenden Studien der Fall. Der Nutzen, welchen sie stiften möchten, wird übrigens derselbe sein, wie seiner

Zeit, als sie gesammelt wurden, denn die Frage harrt noch immer, wie ich früher bemerkt habe, ihrer Lösung.

Wenn der Brauer Proben aus dem Biere im Lagerkeller nimmt, so hat er die Absicht dabei, nicht nur zu erfahren, wie es im Augenblicke ist, sondern auch wie es wird, nachdem es eine gewisse Zeit lang gestanden hat. Er macht diese Untersuchung rein praktisch, ohne sich irgend eines wissenschaftlichen Hilfsmittels zu bedienen. Der Geschmack, der Geruch, die Farbe und die Klarheit der Biere werden beobachtet. Die Proben werden in gut gereinigten und mit gutem Korke versehenen Flaschen aus klarem ungefärbten Glase abgezapft, und um zu erfahren, wie lange sie sich halten können, werden sie in einem finstern Schranke bei der Zimmertemperatur aufbewahrt. Es wird dann Rechnung darüber geführt, ob die Flüssigkeit klar ohne Abfärbung bleibt oder nicht, und wie lange es dauert, ehe ein merkbarer Bodensatz sich gebildet hat, ferner wie dieser aussieht, ob er beim Schütteln sich leicht in der Flüssigkeit verteile, so dafs diese trübe, undurchsichtig wird, oder ob er sich in griesige Brocken lockere, welche wieder ziemlich schnell zu Boden sinken, ohne in einem merkbaren Grade die Klarheit zu stören. Diese Veränderungen sind der Einwirkung der Mikroorganismen zuzuschreiben. Wird die Flüssigkeit ohne Schütteln nach und nach trübe und mifsfarbig, so ist eine Bakterienkrankheit vorhanden. Eine solche kommt jedoch selten und besonders in gut geführten Untergärungs-Brauereien fast niemals vor. Dagegen entwickelt sich selbst in dem besten Biere beim Stehen während einer kürzeren oder längeren Zeit eine Bodensatzhefe, teils aus Kulturhefe, teils aus wilden Hefenarten gebildet und oft aus solchen, die Krankheiten, Hefetrübung und fatale Geschmacksänderungen hervorrufen. Eine Bodensatzhefe wird sich, wie gesagt, nach Verlauf einer ungleichen Zeit entwickeln, nachdem man mit der einen oder der anderen Kulturart arbeitet, und je nachdem diese mit wilden Hefen mehr oder weniger verunreinigt ist. Wenn wir im folgenden über die Haltbarkeit des Bieres sprechen werden, wird nur an die Bodensatzhefe gedacht. Über die Frage der Haltbarkeit siehe auch meine vorangehende Abhandlung.

Das erste, auf das wir acht geben müssen, wenn wir sicher zu gehen wünschen, ist, dafs die kleinen Bierproben, welche wir vom Lagerkeller für die Untersuchung herausnehmen, Durchschnittsproben sind, sonst können sie uns natürlich über den Zustand der grofsen Mengen, aus welchen sie genommen sind, keine Aufschlüsse geben. Hier treten aber sogleich grofse Schwierigkeiten hervor. Selbst wenn eine Abteilung des Lagerkellers zu derselben Zeit eingeschlaucht worden ist, und zwar so, dafs alle Fässer nach und nach mit dem-

selben Biere gefüllt worden sind, wird deren Inhalt doch etwas verschieden werden, es ist nämlich nicht möglich, ihnen jedesmal dieselbe Portion zu geben, bisweilen bekommt ein Fafs eine etwas zu grofse, bisweilen eine etwas zu kleine; weil aber der Inhalt der Gärbottiche während der langen Zeit, die zum Füllen der Fässer nötig ist, nach und nach ein ziemlich verschiedener sein kann, wird dies natürlich auch unter den erwähnten Umständen bemerkbare Differenzen in betreff der Lagerfässer zur Folge haben können. Hieraus folgt, dafs man also Proben aus jedem Fasse für sich nehmen mufs. Die Frage wird dann diese sein, ob man, so wie die Verhältnisse in der Brauerei nun einmal sind, Durchschnittsproben erhalten kann, und auf welche Weise sie am besten zu erhalten sind; dafs jede kleine Portion, welche aus dem grofsen Fasse entnommen wird, nicht genaue Aufschlüsse über den ganzen Inhalt geben kann, ist selbstverständlich.

Das Verfahren, welches angewendet wurde, war folgendes: Mittels eines kleinen Zapfenbohrers oder Zapfenhahns wurde im Lagerkeller ein Teil der oben beschriebenen Flaschen (jede fafst ca. 350 ccm) gefüllt; die Flaschen wurden sogleich gut verkorkt. Sowohl die Flaschen als die Korke waren früher sterilisiert worden, und die Proben wurden mit Vorsicht genommen. Sobald sie in das Laboratorium gebracht waren, wurden sie in einen dunklen Schrank hineingestellt, wo sie der gewöhnlichen Zimmertemperatur ausgesetzt wurden, des Tages in der Regel 16—18°, des Nachts oft nur 10° C.

I. Versuch: Aus 12 Fässern mit während 7 Monaten gelagertem Exportbier wurden 72 solche Proben genommen, 6 aus jedem Fasse, 2 aus dessen unterer, 2 aus dessen mittlerer und 2 aus dessen oberer Schichte. Nach 14 Tagen war ein stark entwickelter Bodensatz gegenwärtig

in 20 Flaschen aus den oberen Schichten
„ 7 „ „ „ mittleren Schichten.
„ 3 „ „ „ unteren Schichten,

Die übrigen 42 zeigten nur einen geringen Bodensatz.

II. Versuch: Aus 5 Fässern mit während 9 Monaten gelagertem Exportbier wurden 30 Proben in derselben Weise wie oben genommen. Das Resultat wurde ein von den oben stehenden verschiedenes; denn nur in 2 Fässern hatte sich die Bodensatzhefe schneller in den Proben aus den oberen als in denjenigen aus den unteren Schichten entwickelt. Zwei Fässer gaben das entgegengesetzte Resultat, und im fünften Fasse war das Resultat für alle drei Schichten in der genannten Richtung dasselbe.

III. Versuch: Aus 10 Fässern mit während 4 Monaten gelagertem Lagerbiere wurden 60 Proben genommen; sie wurden auf dieselbe Weise wie in den zwei früheren Versuchen behandelt. Nach 16 Tagen trat nur in 9 Flaschen eine bedeutende Bodensatzhefe auf, und alle diese Flaschen enthielten Proben aus den oberen Schichten der Fässer.

Kapitän Kühle teilt mir mit, dafs er eine ähnliche Beobachtung über Lagerbier, welches während 6 Monaten gelagert war, gemacht habe.

IV. Versuch: Aus 5 Fässern mit während 3 Monaten gelagertem Lagerbier wurden 30 Proben auf die oben beschriebene Weise genommen. Das Resultat war, dafs die Proben aus den 3 Schichten sich wesentlich gleich verhielten; insofern ein Unterschied überhaupt sich wahrnehmen liefs, zeigte er sich dadurch, dafs die Bodenhefe sich ein wenig früher in den Proben aus den unteren als in denjenigen aus den oberen Schichten gebildet hatte.

Das Hauptresultat war also, dafs die oberen Schichten der Lagerfässer in den meisten Fällen eine Bodensatzhefe früher als die unteren entwickelt hatten, das Gegenteil trat seltener ein. Proben aus einer einzelnen Schicht des Fasses geben folglich in der Regel keine zuverlässigen Aufschlüsse; um die Zufälligkeiten, die eintreten können, zu vermeiden, wird man am liebsten eine gröfsere Zahl davon nehmen.

Da das Bier, wie bemerkt, im Lagerkeller fertig, das Lagerbier sogar sehr alt war, so sollte man erwarten, dafs die oberen Schichten eben ohne Hefezellen waren, und dafs die unteren in jedem Falle eine gröfsere Zahl davon als die oberen enthielten. Es ist möglich, dafs wir, falls wir eine Zählung ausgeführt hätten, dann auch dieses Verhältnis gefunden hätten; wir dürfen aber hier nicht vergessen, dafs das Resultat nicht allein von der Zahl der Hefezellen, sondern auch von der Art und dem Zustand derselben abhängt. Es würde leicht sein, Mutmafsungen aufzustellen, wo die Erklärung zu suchen wäre: da ich aber keine experimentellen Untersuchungen gemacht habe, auf welche ich mich stützen kann, so halte ich es für's beste, nur die Thatsachen mitzuteilen.

Dies war also die Frage über die Durchschnittsprobe. Wir lernen namentlich daraus, dafs der Brauer in der Regel keine solche erhalten wird, wenn er dem gewöhnlichen Verfahren gemäfs aus dem unteren Teile des betreffenden Fasses in eine oder zwei Flaschen Proben abzapft.

Unsere nächste Aufgabe ist, das Verfahren zu erwähnen, welches wir in Anwendung bringen müssen, um zu erfahren, wie lange das Bier unter den Bedingungen haltbar sein wird, denen es nach dem Abfassen ausgesetzt wird. Wir werden hier annehmen, dafs es sowohl auf den Transportfäfschen als in den Flaschen gut behandelt wird. Wenn von gewöhnlichem Lagerbiere die Rede ist, wird dies, wenigstens unter den hier in Dänemark herrschenden Verhältnissen, in der Regel nicht einer höheren als der gewöhnlichen Zimmertemperatur ausgesetzt werden. Mit dem Exportbiere verhält es sich dagegen anders. Von diesem wird aufserdem gefordert, dafs es sich eine viel längere Zeit hindurch halten soll. Der Brauer pflegt deshalb auch seine Proben von Lagerbier bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen zu lassen, während er die Proben von Exportbier einer höheren Temperatur z. B. bei 25° C. aussetzt.

Indem das Bier aus den Lagerfässern in Transportfäfschen und aus diesen wieder in Flaschen abgezapft wird, wird es ziemlich stark gelüftet, und einer der für die Vermehrung der Hefezellen wirksamen Faktoren wird also hier auftreten können. Wenn man das Abzapfen unter Kohlensäuredruck vornimmt, wird dies natürlich vermieden werden; dieses Verfahren wird aber nur ausnahmsweise angewendet.

Die Proben in unseren Flaschen sind dem vorhergehenden zufolge weniger gelüftet worden als das Bier, welches in den Handel kommt; dafs dies einen Einflufs auf die Haltbarkeit hat, zeigen uns folgende Versuche:

Aus dem unteren Teile des betreffenden Lagerfasses wurden in der früher beschriebenen Weise 4 der erwähnten Flaschen gefüllt; zwei von diesen wurden sogleich verkorkt, aus den anderen zwei wurde dagegen das Bier zuerst in ähnliche leere Flaschen übergefüllt, alle wurden dann in einen dunklen Schrank bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestellt. Es ergab sich dann, dafs das auf diese Weise gelüftete Bier in den meisten Fällen eine Bodensatzhefe früher gebildet hatte als das entsprechende nicht gelüftete Bier, nur ausnahmsweise wurde der Bodensatz in beiden Reihen in derselben Zeit gebildet, und nie trat er früher in den nicht gelüfteten als in den gelüfteten hervor. Der Unterschied rücksichtlich der Zeit könnte sich auf mehrere Tage belaufen. Diese Untersuchungen wurden mit Export- und Lagerbier sowohl aus Alt- als aus Neu-Carlsberg gemacht, und die Proben wurden aus 89 Fässern genommen. Das Lagerbier war 3 Monate, das Exportbier 7—12 Monate gelagert worden. Daraus folgt unter anderm, dafs das Bier sich besser konserviert, wenn es während des Abzapfens nicht gelüftet wird.

In einer ähnlichen Reihe von Untersuchungen wurde rücksichtlich der nicht gelüfteten Proben die Frage gestellt, ob die Bodensatzhefe sich am schnellsten bei gewöhnlicher Zimmertemperatur oder bei 25—27° C. entwickelte. Es ergab sich, dafs das erste der Fall war. Nach einem Aufenthalt während eines Monats bei letztgenannter Temperatur waren die meisten Proben des Lagerbiers noch ohne Spur von Hefetrübung, wogegen die entsprechenden, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, nach 15—23 Tagen alle trübe waren.[1]) In den untersuchten Fällen trat die angegebene Differenz überhaupt am stärksten bei dieser Biersorte hervor und schwächer beim Exportbier.

Ich verweise wieder darauf, dafs hier immer nur von der Bildung der Bodensatzhefe die Rede ist; Bakterien dagegen werden sich

[1]) Hier liegt eine Aufgabe vor, deren Lösung von praktischer Bedeutung sein wird.

wahrscheinlicherweise im allgemeinen schneller bei der höheren Temperatur entwickeln. Endlich wurden einige gelüftete und einige nicht gelüftete Proben in den Thermostaten bei 25—27 ° C. angebracht. Auch in diesem Falle wurden jene schneller trübe als diese.

Obwohl die hier mitgeteilten Resultate sich auf eine bedeutende Zahl von Analysen stützen, dürfen wir dennoch nicht ohne weiteres ihnen eine Gemeingültigkeit zuschreiben: wir können nämlich nichts anderes daraus schliefsen, als dafs sie den beschriebenen Verhältnissen entsprechen; um weiter gehen zu können, sind ähnliche Versuche von mehreren verschiedenen Brauereien erforderlich. Es würde mich freuen, falls auch andere Forscher nach und nach in dieser Beziehung Beiträge leisten würden; ich selbst mufs mich damit begnügen, den Anfang gemacht zu haben.

Eine solche Fortsetzung der Beobachtungen soll sich auch auf solches Bier, welches in den Fässern mit Spänen behandelt worden war, und nicht nur auf das fertige gelagerte Bier, sondern auch auf das Bier in den verschiedenen Stadien der Nachgärung erstrecken. In diesem letzteren Falle würde die Aufgabe diese sein, womöglich Regeln für die Beurteilung aufzustellen, wie das Bier rücksichtlich seiner Haltbarkeit sich später verhalten wird, nämlich zu der Zeit, wenn es den Lagerkeller verlassen soll. Am wenigsten kompliziert werden diese Fragen in denjenigen Brauereien sein, wo die Reinzucht der Hefe vollständig durchgeführt ist, und besonders da, wo man nur mit einer genau bekannten Hefeart arbeitet.

Untersuchungen

aus der

Praxis der Gärungsindustrie.

Beiträge zur Lebensgeschichte der Mikroorganismen.

Von

Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen,**

Mitglied der Königl. Dänischen Akademie der Wissenschaften,
Vorstand des physiologischen Laboratoriums Carlsberg, Kopenhagen.

II. Heft.

München und Leipzig.
Druck und Verlag von R. Oldenbourg.
1892.

Nachdruck und Übersetzungsrecht vorbehalten!

Vorwort zum zweiten Heft.

Gleichwie die im ersten Hefte enthaltenen Abhandlungen nehmen auch die gegenwärtigen ihren Ausgangspunkt zunächt von dem Brauwesen. Die meisten meiner Arbeiten auf diesem Gebiete conzentrieren sich, wie verschieden sie auch sein mögen, um die grofsen Fragen: Reinzucht und Behandlung der Hefe. Hierdurch treten sie gleichfalls in ein enges Verhältnis zu den übrigen Zweigen der riesenhaften Industrie, in welcher die Züchtung von Alkoholgärungspilzen eine so wichtige Rolle spielt, nämlich die Spiritus- und Prefshefefabrikation, die Trauben- und Fruchtweingärung. Die Techniker, welche sich mit den letztgenannten Fabrikationen beschäftigen, werden deshalb in meinen „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie" solche Erläuterungen finden, die Rücksicht sowohl auf ihre theoretischen als praktischen Arbeiten nehmen.

Indem ich meine vorliegenden Untersuchungen zugleich als „Beiträge zur Lebensgeschichte der Mikroorganismen" veröffentliche, wünsche ich damit teils das Gebiet, auf welchem diese Untersuchungen sich bewegen, genauer anzugeben, teils zu bezeichnen, dafs dieselben sich auch an die Biologen wenden. In der gegenwärtigen Sammlung gilt dies besonders von der Abhandlung über die Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten und der daran geknüpften historischen Darstellung.

Was das dritte Heft anbelangt, kann ich mitteilen, dafs ein Teil der darin aufzunehmenden Untersuchungen zwar schon fertig ist, dafs aber doch eine längere Zeit verstreichen wird, ehe sie veröffentlicht werden können.

Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, im Herbste 1892.

Emil Chr. Hansen.

Inhalt des zweiten Heftes.

Seite

Vorwort zum zweiten Heft III

I. Über die gärungstechnische Analyse der Mikroorganismen der Luft und des Wassers 1

1. Die praktischen Resultate meiner Luft-Analysen 1

2. Über die Prinzipien der gärungstechnischen Wasser-Analyse, S. 4. Vergleich zwischen den durch Kochs Gelatineverfahren und den durch mein Kölbchenverfahren erhaltenen Resultaten, S. 6. Die hygienische Methode ist in der Brauerei-Analyse nur zur Prüfung der Filter anwendbar, S. 9. Die Würzebakterien und die gemeinen Wasserbakterien, S. 10. Beschreibung meiner Methode, S. 11. Allgemeines über die Anwendung derselben in den Brauereien, S. 13. Nachschrift, S. 17.

II. Was ist die reine Hefe Pasteurs? 17

1. Das alte Verfahren, welches ich noch im Jahre 1880 zur Darstellung meiner Reinkulturen von Sacch. apiculatus benutzte, S. 17. Duclaux' Behauptung, dafs Pasteurs Reinzuchtmethoden Genüge leisten, S. 19. Theoretische Einwendungen dawider von Miquel, Jörgensen, Denamur und mir, S. 20. Duclaux' Vorträge bei den Brauerkongressen in Paris und Lille im Jahre 1889 u. 1890, S. 21. Veltens Angriffe auf meine Reinzuchtmethode, S. 22. Seine Behauptung, dafs Pasteurs Verfahren zur Reinigung der Brauereihefe das richtige ist, S. 23. Die Versuche der Herren Jacobsen auf Alt- und Neu-Carlsberg, S. 23.

2. Pasteurs Reinzuchtverfahren wird einer Prüfung unterworfen, S. 24. Die vier ersten Versuche, S. 24. Ergebnisse, S. 27. Der fünfte und sechste Versuch werden speziell angestellt, um Veltens Behauptungen zu prüfen, S. 28. Das von Velten und Duclaux empfohlene Pasteursche Verfahren gibt keine Sicherheit, eine Reinkultur zu erhalten, und rücksichtlich der Brauereihefe verursacht es sogar, dafs die gute Kulturhefe unterdrückt wird, während die gegenwärtigen Krankheitshefen dagegen stärker entwickelt werden, S. 31. Veltens neue Einwände im Jahre 1891, S. 32. Jörgensens Untersuchungen, S. 33. Durch den siebenten und achten Versuch werden die neuen Einwendungen zurückgewiesen, S. 33.

Seite

3. Was gegen die Anwendung von Weinsäure zur Darstellung reiner Hefe vorgeführt wurde, gilt auch von Flufssäure und anderen antiseptischen Mitteln, S. 35. Das Züchten in einer Nährlösung mit Weinsäure als Hilfsmittel bei der Hefenanalyse, S. 37.
4. Was Pasteur mit einer reinen Brauereihefe gemeint hat, S. 38. Pasteurs Arbeiten und die meinigen bezeichnen zwei ganz verschiedene Standpunkte, S. 40.

III. Untersuchungen über Krankheiten im Biere, durch Alkoholgärungspilze hervorgerufen 41

1. Einleitung 41

2. Wie die Lehre von Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten sich nach und nach entwickelt hat 42

Needhams und Spallanzanis Untersuchungen über die Urzeugung, S. 42. Scheele erfindet die Erwärmungsmethode zum Konservieren des Essigs, S. 43. Chaptal und die erste Andeutung, dafs ein Kausalitätsverhältnis zwischen Krankheiten des Weines und den Mikroorganismen besteht, S. 43. Die Erwärmungsmethode wird von Appert weiter entwickelt und auch zum Konservieren des Weines und des Bieres angewendet, S. 44. Franz Schulze, Theodor Schwann und Cagniard Latour, S. 46—47. Kützing entdeckt eine Essigsäurebakterie, S. 47. Turpins Gärungstheorie, S. 47. Schröders und Dusch' baumwollener Filter zur Sterilisation der Luft, S. 48. Bail, S. 49. Pasteurs Untersuchungen über Milchsäuregärung und Urzeugung, S. 49, über Essigsäuregärung, S. 50, über Wein, S. 51. Reefs, S. 52. Die Mitteilungen über Sacch. exiguus von Holzner, Lintner sen. und Engel, S. 52—53. Cohn, Cienkowski, Harz, S. 54. Pasteurs Studien über das Bier, S. 54—58. Lintner sen. über „leichte Hefe", S. 58. Nägeli, S. 59. Diskussionen über die Ausartung und Umbildung der Brauereihefe, S. 60—62. Standpunkt der französischen Schule im Jahre 1883, S. 62. Kochs Schule, S. 62. Fitz, Thausing, S. 63.

3. Meine Untersuchungen 64

Aufgabe und Untersuchungsmethode 64

Hefentrübung im Biere, hervorgerufen durch Sacch. ellipsoïdeus II und Sacch. Pastorianus III 67

Hauptresultat, S. 78.

Saccharomyces exiguus 79

Hauptresultat, S. 81.

Unangenehmer Geruch und Geschmack des Bieres durch Sacch. Pastorianus I hervorgerufen 82

Hauptresultat, S. 87. Die Literatur von 1883 bis heute, S. 89.

Woher kommen die Krankheitshefen? 91

Der Kreislauf des Sacch. apiculatus in der Natur, S. 91—93. Bildungsherde und Winteraufenthaltsort der echten Saccharomyceten, S. 93—95. Die offenen Kühlschiffe, S. 95. Das Fafsgeläger und das altmodische Wechseln der Stellhefe, S. 96.

Mischungen von Brauereihefearten 96

Hauptresultat, S. 100.

Mycoderma cerevisiae 101

Hauptresultat, S. 104.

Seite

IV. Über die gegenwärtige Verbreitung meines Hefereinzucht-Systems 105

1. Der Zweck dieser Übersicht 105
2. Die Untergärungs-Brauereien 107
3. Die Obergärungsbrauereien 112
4. Die Spiritus- und Preſshefenfabriken 118
5. Die Trauben- und Fruchtweingärung 121
6. Rückblick und Schluſsbemerkungen 126

I.

Über die gärungstechnische Analyse der Mikroorganismen der Luft und des Wassers.

1.

Eine der ersten gröfseren Arbeiten, die ich in Angriff nahm, als ich meine Studien über die Mikroorganismen anfing, war „Untersuchungen über die Organismen, welche zu verschiedenen Zeiten des Jahres in der Luft in und um Carlsberg sich finden und sich in Bierwürze entwickeln können". (Mitteilungen des Carlsberger Laborat. Hagerup's Buchhandl. Kopenhagen. I. Bd., 2. Heft, 1879, und 4. Heft, 1882).

Wie der Titel angibt, enthalten diese Untersuchungen Aufschlüsse über diejenigen Arten der Mikroorganismen der Luft, welche Vegetationen in Würze bilden können, und über das Auftreten derselben zu den verschiedenen Zeiten des Jahres sowohl in den Brauerei-Lokalen als im Freien. Der Frage über den Herd dieser Wesen wurde eine besondere Aufmerksamkeit zugewendet. Theoretische wie praktische Studien sind in dieser wie in mehreren meiner anderen Arbeiten eng zusammengeknüpft. Unter den theoretischen nehmen die Untersuchungen über den Kreislauf der Alkoholgärungspilze in der Natur einen hervortretenden Platz ein (siehe hierüber auch das nachfolgende Kapitel: „Woher kommen die Krankheitshefen?"); die dadurch gewonnenen Resultate haben aber andererseits auch ein praktisches Interesse, namentlich für die Bierfabrikation, indem sie über die gröfsere oder kleinere Gefahr vor Infektion, welche nach den Jahreszeiten und unter verschiedenen Verhältnissen vorhanden ist, Aufschluſs bringen. Zu denjenigen Teilen der Abhandlungen, welche hauptsächlich ein praktisches Interesse haben, gehören die Untersuchungen über die Mikroorganismen, welche in den Trebern und in der Luft in verschiedenen Brauerei-Lokalitäten sich finden.

Wie bekannt, enthalten die Treber zahlreiche Bakterien, welche saure Gärungen hervorrufen, die durch ihren Geruch sich leicht bemerkbar machen. Falls diese Bakterien mit den in die Luft aufsteigenden Dämpfen mitgerissen werden könnten, würden die Treber in den Brauereihöfen sehr gefährlich sein. Es ist daher ganz natürlich, daſs man diese Dämpfe immer mit Mifstrauen betrachtet hat. Die Versuche, welche ich

auf die Aufforderung des Herrn Brauereibesitzers Kogsbölle anstellte, zeigten aber, dafs die Dämpfe nicht Bakterien mit sich führen. Wenn dagegen die Treber so ausgetrocknet werden, dafs der Wind von ihnen Staubwolken aufwirbeln kann, werden sie in hohem Grade gefährlich. In der Regel liegen sie jedoch nur eine so kurze Zeit, dafs ihre ganze Masse sich fortwährend feucht hält. Die Gefahr tritt also erst dann ein, wenn die Hauptmasse fortgeschafft ist, und kleine Reste in dünnen Schichten im Hofe zurückgeblieben sind. Falls sie dann nicht sorgsam zusammengefegt und entfernt werden, können sie Bakterienkrankheiten veranlassen[1]).

Ein praktisches Interesse haben auch die Differenzen, welche die zu derselben Zeit an verschiedenen Punkten in der Brauerei Alt-Carlsberg ausgeführten Analysen zeigten. Die reinste Luft wurde im Gärkeller gefunden. Diese rührt nicht nur von der strengen Ordnung her, welche da immer herrscht, sondern in einem noch höheren Grade von dem Umstande, dafs der Keller vermittelst einer Eismaschine mit kalter Luft versehen wird, welche aufserdem einer besonderen Reinigung in einem mit Chlornatrium gesättigten Regenbade unterworfen wird. Die Luft im Gärkeller auf Alt-Carlsberg enthielt im Durchschnitt in 1 ccm 0,0006 Keime, also 1 Keim in 1591 ccm. Ich führe diese Zahlengröfsen auf, weil ich annehme, dafs sie als ein Mafsstab bei derartigen Analysen dienen können werden, wenigstens bis man einen besseren bekommt.

Indem ich ähnliche Analysen in den Gärkellern anderer Brauereien anstellte, in welchen keine Luftreinigung stattfand, war der Unterschied ein sehr hervortretender; nicht selten enthielt die Luft hier über vier Mal so viele Keime als in dem vorerwähnten Keller. Häufig beobachtete ich auch hier Bakterien (darunter Sarcina) und wilde Hefenarten, welche sich in meinen späteren Untersuchungen als Krankheitshefen zeigten. Während dieser Studien entstand bei mir zum ersten Mal die Idee, dafs einige der

---

[1]) Ich darf es hier nicht unterlassen, auf die grofse Gefahr aufmerksam zu machen, welche die Apparate mit sich führen, welche in den späteren Jahren, namentlich in Deutschland, in mehreren Brauereien zum Trocknen der Treber aufgestellt wurden. In den Fällen, wo ich Gelegenheit hatte, die auf diese Weise getrockneten Treber zu untersuchen, zeigte es sich nämlich, dafs die Mikroorganismen darin gar nicht getötet waren; insbesondere galt dies für die Bakterien. Wenn die Brauer mit mehr Aufmerksamkeit, als dies geschehen ist, meine oben berührten Untersuchungen über das Verhalten der Treber im Brauereihofe studiert hätten, würden sie gewifs gröfseres Bedenken getragen haben, als dies oft der Fall ist, den genannten Trockenapparat so anzubringen, dafs Kühlschiffe und Gärkeller alltäglich von dem davon ausgehenden bakterienreichen Staub infiziert werden können. Indem man die Treber trocknet, bringt man sie gerade in den Zustand, in welchem sie sehr gefährlich für den Betrieb werden. Dies alles sollte der Brauer mit in Betracht nehmen, wenn er seine Berechnung anstellt, ob er sich einen Treber-Trockenapparat zulegen soll oder nicht.

allgemeinsten und gefährlichsten Krankheiten des Bieres nicht durch Bakterien, sondern durch gewisse Saccharomyceten hervorgerufen werden, welche Idee der Ausgangspunkt meiner Forschungen in dieser Richtung wurde.

Die Versuche haben natürlich nur für die Orte, an welchen sie angestellt wurden, und nur für die damaligen Verhältnisse, absolute Giltigkeit. Im Grofsen genommen werden dieselben jedoch auch für andere ähnliche Gegenden und für andere Brauereien passen. Obschon sie in den Jahren 1878—80 ausgeführt wurden, sind sie noch jetzt die umfassendsten, welche wir auf diesem Gebiete haben, und die darin dargelegten Resultate haben von ihrer Giltigkeit nichts verloren. Auch was die von mir in diesen alten Versuchen benutzte Technik angeht, darf noch jetzt behauptet werden, dafs sie im Prinzip richtig ist. Der einzige Einwand, welcher auf unserem nunmehrigen Standpunkt dagegen erhoben werden kann, ist der, dafs man jetzt dasselbe in bequemerer Weise erreichen kann. Sollte ich im Augenblicke derartige Untersuchungen über die Mikroorganismen der Luft ausführen, würde ich ein ähnliches Verfahren anwenden wie das in dem folgenden Abschnitte über die Analyse des Wassers beschriebene.

Wie oben bemerkt, gehören diese Untersuchungen zu der Reihe meiner Schriften, welche Aufgaben aus der Praxis der Gärungsindustrie behandeln. Die Leser, welche dieselben genauer zu studieren wünschen, verweise ich auf meine Abhandlungen (Dänisch und Französisch) in den oben erwähnten Carlsberger Mitteilungen.

In den letzten Jahren haben mehrere Zymotechniker ähnliche Untersuchungen angestellt, namentlich P. Lindner in Berlin, Will in München, Grönlund und Alfred Jörgensen in Kopenhagen.

Da es nun so leicht ist, wissenschaftliche Hilfe zu erhalten, wird man künftighin in gröfseren, wohleingerichteten Brauereien es schwerlich versäumen, dann und wann Analysen der Luft vornehmen zu lassen; man wird dadurch gröfsere Klarheit über den Gang des Betriebs erlangen und zuweilen auch noch imstande sein, Unfällen vorzubeugen. Es ist namentlich der Zustand im Gärkeller, welcher in dieser Beziehung Bedeutung hat.

Ein besonderes Interesse bekommen solche Analysen, wenn man Apparate zur Reinigung der Luft in Anwendung bringt, wie dies schon vor mehreren Jahren in den Brauereien Alt- und Neu-Carlsberg geschehen ist. In der jüngsten Zeit sind es namentlich Lindes Eismaschinen und Kühlröhren, welche zu diesem Zwecke in zahlreichen Brauereien eingeführt worden sind. Wenn man nicht blindlings verfahren will, mufs man natürlich untersuchen, was dadurch erzielt wird. Es liegen jedoch, soweit ich weifs, Analysen über die Leistungsfähigkeit von Lindes Kühl-

röhren in der genannten Richtung noch nicht vor, sie wären aber sehr erwünscht; ich habe darum auch in meinen Vorlesungen mehrmals darauf aufmerksam gemacht und ergreife hier wieder die Gelegenheit dazu.

2.

Alle sind darüber einig, dafs die biologische Untersuchung des Wassers in den Brauereien nach denselben Prinzipien vorzunehmen ist wie die Untersuchung der Luft. Auch scheint es, von selbst zu folgen, dafs bei den Züchtungsversuchen, welche die genannte Untersuchung erfordern, gerade die Flüssigkeiten, mit welchen in den Brauereien gearbeitet wird, zu benutzen sind. Über diesen letzten Punkt herrscht jedoch noch nicht vollständige Einigkeit. Namentlich gegen Ende der achtziger Jahre wurde diese Auffassung der Sache von mehreren leitenden Bakteriologen nicht geteilt. Es wurden damals allenthalben eine grofse Anzahl Untersuchungen über den Inhalt des Wassers an Mikroorganismen nach Koch's Gelatinemethode vorgenommen, nicht allein in den hygienischen, sondern auch in den zymotechnischen Laboratorien. In einer gröfseren Arbeit, die Hueppe i. J. 1887 über solche Analysen herausgab, hebt er hervor, dafs diese Methode die wichtigste sei, wenn es sich um die Lösung praktischer Aufgaben, sowohl in der Technik, als in der Hygiene, handelt. Er machte in dieser Hinsicht keinen Unterschied; die Gelatine sollte in allen Fällen angewendet werden.

Dieses mufste ich sogleich für einen grofsen Irrthum ansehen; und nachdem ich die notwendigen Versuche in dieser Richtung ausgeführt hatte, replizierte ich dagegen in einer kleinen Abhandlung, welche anfangs 1888 in der „Zeitschrift für das gesammte Brauwesen" erschien. Ich erreichte wohl dadurch, dafs Hueppe, sowie einige andere der einseitigen Fürsprecher des Gelatineverfahrens ihre Auffassung auf diesem Punkte veränderten, aber indessen hatte man sich in den meisten zymotechnischen Laboratorien dermafsen daran gewöhnt, ausschliefslich nach Koch's hygienischer Methode zu arbeiten, dafs es sehr schwierig war, in dieser Hinsicht eine Änderung zu bewirken. Meine genannte Abhandlung wurde mit Aufmerksamkeit gelesen; Wohlwollen wurde mir aber, wie dies zu erwarten stand, nicht zu teil. Auch Hueppe konnte seine Mifsstimmung gegen dieselbe nicht unterdrücken, trotzdem er im Grunde anerkannte, dafs ich Recht hatte. Merkwürdig genug wurde meine Arbeit von den meisten deutschen Bakteriologen als ein Angriff auf die Methode Koch's aufgefafst, was sie jedoch nicht im geringsten ist; sie bezweckte nur, vor Mifsbrauch derselben zu warnen.

Als ich während meines Besuches in London i. J. 1889 einen Vortrag über diesen Gegenstand in „The Laboratory Club" hielt, wurde mir ebenfalls dort von mehreren Seiten in dieser Veranlassung Widerstand geleistet. Auch in England hatte man sich nämlich im Laufe der Jahre

an das Arbeiten nach dem hygienischen Verfahren gewöhnt, ohne vorher zu untersuchen, ob auch wirklich auf diesem Wege die Beantwortung der vom Brauereibetriebe gestellten Fragen zu erreichen sei. Ich habe vorsätzlich nicht auf diese Streitigkeiten wieder eingehen wollen; denn sie haben nicht länger hinlängliches Interesse. Seit den letzten paar Jahren haben sich zudem immer mehrere Laboratorien in den verschiedenen Ländern mir angeschlossen. Es ist nun meine Absicht, an dieser Stelle eine Bearbeitung meiner obberührten Abhandlungen zu geben, und hiermit hoffe ich, diese Arbeiten abschliefsen zu können.

Die von Koch angegebene Methode zur bakteriologischen Analyse von Trinkwasser besteht darin, dafs man 1 ccm von dem betreffenden Wasser mit 10 ccm bei 30° C. verflüfsigter Nährgelatine (Fleischwasser-Pepton-Gelatine) mischt. Diese Mischung wird auf eine Platte ausgegossen und durch eine feuchte Glocke vor fremder Infektion geschützt. Unter Umständen benützt man nur ½ ccm oder selbst nur einen Tropfen von dem Wasser. Die Platten werden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und nach 3—4 Tagen untersucht. Aus praktischen Gründen berechnet man die Zahl der entwickelten Vegetationsflecke auf 1 ccm des untersuchten Wassers.

Wenn ein Brauer eine bakteriologische Analyse von dem Wasser wünscht, welches er in seiner Fabrik anzuwenden gedenkt, so handelt es sich nicht darum, zu ermitteln, welche und wie viele Mikroorganismen überhaupt sich darin befinden, auch nicht, welche Vegetationen sich in Gelatine oder in anderen festen Nährsubstraten mit oder ohne Fleischwasser-Pepton entwickeln; das Alles hat hier kein Interesse, denn die Fabrik arbeitet weder mit der einen noch mit der anderen dieser Substanzen. Die einfache Frage aber, welche uns gestellt wird, ist diese: Wie verhält sich das Wasser zu der Würze und zu dem Biere; in welchem Grade ist es reich an solchen Mikroorganismen, die sich in den oben genannten Nährlösungen entwickeln können, und gibt es unter ihnen solche Arten, die gefährliche Betriebsstörungen hervorrufen können? Unsere Analyse mufs, kurz gesagt, soweit wie möglich unter den in der Brauerei obwaltenden Verhältnissen ausgeführt werden; wir müssen also vor Allem mit den beiden genannten Flüssigkeiten selbst arbeiten. Es wäre auch für den Hygieniker wünschenswert, direkt experimentieren zu können; er kann aber seine Proben nicht mit dem menschlichen Körper selbst anstellen und mufs statt dessen sich mit künstlichen Nährsubstanzen begnügen. Was ich hier bemerkt habe, ist so einleuchtend, dafs ich mich eigentlich wundere, dafs es notwendig ist, daran aufmerksam zu machen.

Die Resultate dieser zymotechnischen Methode decken sich, wie es leicht vorauszusehen ist, nicht mit denen der oben berührten hygienischen;

die Zusammenstellungen im Folgenden zeigen dieses in greifbarer Weise. Indem die Gärungsphysiologie und Gärungstechnik ihre besonderen, von denen der medizinischen Bakteriologie verschiedenen Aufgaben haben, müssen sie auch ihre eigenen Methoden ausarbeiten[1]).

Von den soeben besprochenen Gesichtspunkten geleitet, habe ich die folgenden Versuche angestellt.

Die Nährflüfsigkeiten, das Bier und die Würze, wurden jede für sich in kleine Kolben mit Baumwolleverschlufs gefüllt. Der Chamberlandkolben, welchen ich in einer früheren Abhandlung abgebildet habe, oder noch befser die Cylinderform desselben (gewöhnlich Freudenreichkolben genannt) ist namentlich zu empfehlen. Ich verwendete solche Kolben von 22 ccm Inhalt und gab in jeden ungefähr 10 ccm der Flüssigkeit. Eine gröfsere Anzahl davon wurde auf einmal im Dampfkochtopfe unter Druck sterilisiert. Dieses Verfahren ist besonders für das Bier, welches bekanntermafsen, ohne starke Veränderungen hervorzurufen, schwer zu sterilisieren ist, zu empfehlen; es gilt, wie hervorgehoben, sich so sehr wie möglich den Verhältnissen im Betriebe zu nähern. Möglicherweise könnte man noch befsere Bierpräparate erhalten, falls die Sterilisation mittels einer Filters (z. B. Chamberland's Thonröhre) ausgeführt würde und zwar mit solchen Vorrichtungen, dafs weder der Alkohol, noch die Kohlensäure entweichen könnte; die Arbeit würde aber hierdurch bedeutend schwieriger werden. Die Würze kann man selbstverständlich auch durch einfaches Kochen sterilisieren.

Von dem gewöhnlichen Kaltleitungswasser in Alt-Carlsberg wurden im September 1887 5 ccm mit 5 ccm der Nährflüfsigkeit (in der einen Reihe Bier, in der anderen Würze) gemischt. Mit je einem Tropfen (0,04 ccm) dieser beiden Mischungen wurden dann in der einen Reihe 15 Kolben, welche Bier, und in der anderen 15, welche Würze enthielten, beschickt. Die Tropfenaussaat kann man mittels einer Pipette bewerkstelligen. Das obere Ende dieser wird mit einem Kautschukschlauche verbunden, in welchen man Baumwolle anbringt, um die während des Tropfens einströmmende Luft vollständig keimfrei zu machen; nachdem das Ganze sterilisiert ist, wird es in passender Weise an einem Stative festgemacht. Mittels eines Quetschhahnes reguliert man das Ausströmen. Bei allen diesen Arbeiten ist der von mir früher beschriebene Kasten zu empfehlen. Selbstverständlich ist es, dafs alle die Apparate, sowie die Nährsubstrate sterilisiert sein müssen, und dafs man dafür Sorge tragen mufs, immer mit Durchschnittsproben zu arbeiten. Das zur Aussaat in

[1]) Das Wort Methode ist hier in derselben Bedeutung genommen, welche es in der neueren physiologischen und chemischen Literatur bekommen hat; es werden dadurch Arbeitsverfahren, technische Einrichtungen und Kunstgriffe und nicht neue Forschungsrichtungen bezeichnet.

die Kolben verwendete Wasserquantum wird jedesmal genau gemessen, so dafs man das erhaltene Resultat auf 1 ccm umrechnen kann.

Aus derselben Wasserprobe wurde zu derselben Zeit zur Analyse nach Koch's Verfahren ½ ccm und zu einer ähnlichen Plattenkultur, wo aber statt Fleischwasser-Pepton-Gelatine Würze-Gelatine (Würze mit ca. 5% Gelatine) verwendet wurde, gleichfalls ½ ccm genommen. Aufserdem wurden auf erstarrten Gelatineplatten ohne Nährflüssigkeit eine grofse Anzahl Tropfen der oben erwähnten Mischungen von Wasser mit Würze und von Wasser mit Bier ausgesäet. Alle diese Gelatinekulturen wurden feucht gehalten und mit Glasglocken überdeckt und gleichwie die Kulturen in den Kolben in einen Thermostat bei 24—25° C. gebracht.

Der Zweck dieses Versuches war in erster Linie, genaue Aufschlüfse zu erhalten, wie die Kulturen im Bier und in der Würze im Vergleich mit den Gelatinekulturen sich verhalten würden, und dann aus den erhaltenen Resultaten zu ermitteln, welches Verfahren am besten bei Brauerei-Analysen zu verwenden sei. Die letztgenannten Gelatinekulturen wurden verwendet, weil ich zu probiren wünschte, ob es nicht auf die eine oder die andere Weise möglich wäre, auch für diese Analyse Gelatine anzuwenden. Es ist nämlich oft leichter, besonders für den weniger Geübten, mit Kulturen in Gelatine als mit Kulturen in Flüssigkeiten zu arbeiten.

Das Resultat der beschriebenen Versuchsreihe war folgendes: Nach ungefähr drei Tagen waren die beiden Kolben mit den Mischungen von 5 ccm Wasser mit 5 ccm Würze und von 5 ccm Wasser mit 5 ccm Bier trübe; sie enthielten eine sehr kräftige Bakterienvegetation und als untergeordnete Einmischung einige hefeähnliche Zellen (Pasteur's sogenannte Torula).

Nach 3—4 Tagen enthielten mehrere Tropfen auf der reinen Gelatine makroskopisch kennbare Vegetationen; solche fanden sich auch in Koch's Gelatine und in der Würzegelatine.

Nach 4—5 Tagen enthielten alle auf der reinen Gelatine ausgesäten Tropfen der Bier- und Würzemischungen deutliche Vegetationen; nur in zwei Tropfen fanden sich die oben genannten hefeähnlichen Zellen, in 3 Tropfen Schimmelpilze (Penicill. glaucum und Cladosporium), in diesen 5 Tropfen aufserdem Bakterien; alle übrigen Tropfen enthielten nur Bakterien. In den meisten Fällen hatten diese Vegetationen die Gelatine flüfsig gemacht.

Der Versuch wurde nach 14 Tagen unterbrochen. Alle Bier- und Würzekolben mit der geringen Zugabe von Wasser enthielten zu dieser Zeit noch keine Spur von Vegetation.

In Koch's Gelatine fanden sich 111 Vegetationsflecken, welches Resultat für 1 ccm Wasser berechnet 222 gibt; alle enthielten Bakterien, nur wenige der Vegetationen hatten die Gelatine verflüssigt.

Die Würzegelatine zeigte 15 Vegetationen, in 1 ccm Wasser also 30.

Als weiteres Beispiel führe ich die Resultate einer zweiten, in ganz derselben Weise wie die erste angestellte Versuchsreihe an. Die Wasserprobe wurde 3 Tage später als die vorige genommen.

Der Verlauf war ungefähr derselbe, nur war am 4. Tage ein Würzekolben von Bakterien und am 5. Tage ein anderer Würzekolben von Penicill. glaucum angegriffen.

Nach 15 Tagen waren die übrigen 13 Würzekolben noch klar, ohne Spur von Vegetation, und dasselbe war der Fall mit allen 15 Bierkolben.

Die Zahl der Vegetationen der Würzekolben, für 1 ccm berechnet, war folglich 6,6, während die der Fleischwasserpeptongelatine 1000 und die der Würzegelatine 34 waren, gleichfalls für 1 ccm des Wassers berechnet. Wie in der ersten Reihe entwickelten alle die auf der reinen Gelatine ausgesäeten Tropfen Vegetationen. Die beobachteten Mikroorganismen waren dieselben wie in der ersten Reihe.

Dasselbe Hauptresultat gaben auch einige Analysen, die während den Monaten September, Oktober und November 1887 unter meiner Anleitung von den Teilnehmern meiner gärungsphysiologischen Kurse, Herren Karneeff aus Moskau, Kukla aus Prag, Terry aus Melbourne und Wichmann aus Wien ausgeführt wurden.

Man ersieht aus allen diesen Versuchen, dafs die hygienische Methode immer einen allzu hohen Ausschlag gegeben hat, und dafs mit den Würze-Gelatinekulturen ebenso wenig zu machen ist. Während die Kulturen in Bier immer 0 und in Würze in den gleichzeitigen Reihen 0; 0; 6,6; 3; 9 Vegetationen auf 1 ccm Wasser gaben, fanden sich, wenn Koch's Nährgelatine angewendet wurde, unter den gleichen Verhältnissen und in den entsprechenden Wasserproben 100; 222; 1000; 750; ja einmal sogar 1500 in 1 ccm Wasser.

Dafs die letztgenannten Zahlen als wertlos für die Brauereianalyse zu betrachten sind, braucht nicht hervorgehoben zu werden. Ein wenig besser stellt sich die Analyse, wenn man statt Fleischwasserpeptongelatine Würzegelatine benutzt; auch in diesem Falle jedoch sind die Zahlen gar zu hoch, und sie geben uns auch keine brauchbare Auskunft. Die allermeisten der in den Gelatinekulturen entwickelten Bakterien kamen weder in dem Biere, noch in der Würze fort und haben folglich für unsere Zwecke keine Bedeutung.

Um einen Vergleich machen zu können, stellte ich alle Kulturen der oben erwähnten Versuchsreihen bei derselben Temperatur, nämlich bei 24—25 ° C. an. Nach der hygienischen Methode werden die Kulturen

indessen gewöhnlich bei Zimmertemperatur angestellt und die Untersuchung nach 3—4 Tagen vorgenommen. Auch wenn ich meine Versuche auf diese Weise ausführte, erhielt ich aber immer gar zu hohe Resultate im Vergleich zu denen der Kulturen mittels der beiden Nährflüssigkeiten. Das Verfahren Koch's kann folglich auch nicht in dieser Form angewendet werden.

Könnten wir mittels der hygienischen Methode mit einiger Sicherheit feststellen, ob pathogene (Krankheit erregende) Bakterien in dem Brauwasser zugegen waren oder nicht, würden wir sie natürlicherweise immer neben der anderen benutzen; dies ist bekanntermafsen aber leider noch nicht der Fall, und sie bekommt daher für unsere Zwecke höchstens die Bedeutung als ein Mittel zur Kontrolle der Filter.

Auch bei dieser Probe kommt es aber besonders darauf an, die Analyse auf eine solche Weise auszuführen, dafs die durch einen längeren Zeitraum und auf verschiedenen Stellen bekommenen Resultate wirklich untereinander zu vergleichen sind. In den Lehrbüchern wird, wie gesagt, empfohlen, das Koch'sche Verfahren so anzuwenden, dafs man die Plattenkulturen 3—4 Tage bei Zimmertemperatur stehen läfst. Hierzu ist erstens zu bemerken, dass zu dieser Zeit in der Regel nur ein kleiner Teil des ganzen Bakterieninhalts eine deutliche Entwickelung gegeben hat, und diese prozentweise genommen, wird nicht in jedem Falle der Ausdruck der gesammten Bakterienmenge sein. Wünscht man eine genaue Auskunft über den wirklichen Bakterieninhalt eines Wassers zu bekommen, mufs man die Kultur wenigstens 14 Tage fortsetzen. In einer Analyse wurde z. B. nach 4 Tagen nur $^1/_{10}$ der Zahl von Vegetationen, welche sich nach 10 Tagen entwickelt hatten, gefunden, und nur $^1/_{15}$ derer, welche nach 16 Tagen vorhanden waren. Aufserdem ist die Zimmertemperatur eine sehr unbestimmte und variable Gröfse; einen nicht geringen Unterschied macht es z. B., ob die Kulturen bei 20 ° oder bei 10—5 ° C. stehen. Während des Sommers wird dieselbe Analyse ein ganz anderes Resultat geben können, als wenn sie während des Winters ausgeführt würde. Wenn man zur Zeit des Sommers, und unter verhältnismäfsig günstigen Wärmeverhältnissen bei Nacht arbeitet, wird dieselbe Wasserprobe bei derselben Züchtung ein bemerkbar verschiedenes Resultat geben, je nachdem die Untersuchung der entwickelten Kolonien nach drei oder vier Tagen ausgeführt wird. Soll also eine Komparation stattfinden, und darauf läuft ja Alles hinaus, so mufs man diese Faktoren genauer nehmen, als es bisher gewöhnlich geschehen ist. — Eine weitere Schwierigkeit bei den Gelatinekulturen besteht darin, dafs Schimmelvegetationen sich am Beginn des Versuches nicht selten dermafsen aus-

breiten, dafs es unmöglich wird, die Analyse durchzuführen. Nur wenn wir die oben berührten Verhältnisse mit in Betracht ziehen, werden wir die Gelatinemethode mit Vorteil zur Prüfung der Leistungsfähigkeit unserer Wasser- und Luftfilter anwenden können.

Betrachten wir die vorgehenden Untersuchungen genauer, so sehen wir, dafs sie uns nicht blofs den Weg weisen, welchen wir zu gehen haben, wenn es sich um die rationelle Analyse von Brauwasser handelt, sondern dass sie uns auch Aufklärungen über mehr allgemein interessante biologische Verhältnisse geben. Wir lernen so, dafs unter den in den untersuchten Wasserproben zahlreich anwesenden Bakterien nur äufserst wenige die Würze und gar keine das Bier angegriffen haben. Es folgt von selbst, dafs andere Wasserproben ein anderes Resultat geben können; eine Hauptregel scheint aber darin zu liegen.

Da jeder von den auf der reinen Gelatine gesäeten Tropfen, halb Wasser, halb Nährflüssigkeit, eine kräftige Vegetation gab, so können wir davon mit Sicherheit schliefsen, dafs auch alle Würze- und Bierkolben, welche mit ganz ähnlichen Tropfen beschickt wurden, lebenskräftige Keime empfangen haben. Bei direkter Untersuchung wurde es für die zwei oben genauer beschriebenen Versuchsreihen festgestellt, dafs die Aussaat in jedem Kolben sogar in mehreren Fällen 60, häufig 20 und niemals weniger als 4 Bakterien enthielt; die meisten dieser Keime kamen also in den beiden Flüssigkeiten nicht zur Entwickelung. Indem einige der Würzekolben Bakterien-Vegetationen entwickelten, nehme ich an, dafs einige unter der grofsen Anzahl von Bakterien des Wassers zu solchen Arten gehörten, welche die Würze angreifen können. Dieses zeigte sich deutlich in den Fällen, wo die Vegetation eines Würzekolbens nur von einer einzigen Bakterienart gebildet war. Wenn Spuren einer solchen Reinkultur in andere Würzekolben überführt wurden, riefen sie, wie zu erwarten war, auch hier schnell Bakterientrübung hervor; das Bier aber wurde niemals von ihnen angegriffen. Bakterien, welche das Bier angreifen können, dürften im Wasser überhaupt selten sein.

Sobald aber diese Flüssigkeiten stark verdünnt wurden, entwickelten sich in der Regel sehr kräftig die in ihnen ausgesäeten Mikroorganismen. Sowohl die Mischungskolben wie die Tropfenaussaat auf den Gelatineplatten zeigen uns schon dies und noch deutlicher specielle Versuche, die ich in dieser Richtung anstellte. Nicht nur die Würze, sondern auch das Bier hatten unter diesen Umständen ihre alte Widerstandskraft verloren; sie sind in dem verdünnten Zustande aber auch nicht länger das, was man sich in der Brauerei unter Bier und Würze denkt. Bei der Untersuchung der Kolben darf man nicht vergessen, dafs es Bakterien gibt, die sich in Würze und besonders im Bier entwickeln können, ohne

Trübung hervorzurufen; hierher gehören z. B. die von mir vor einigen Jahren beschriebenen Efsigsäurebakterien.

Um die Frage über die Desinfektionskraft der genannten Flüssigkeiten den Wasserbakterien gegenüber näher zu studieren, stellte ich einige besondere Untersuchungen an. Von den bakterienreichen Mischungskolben wurde etwas in einen anderen Kolben mit sterilisirtem Wasser übertragen. Das Wasser wurde hierdurch ganz trübe. Von dieser neuen Mischung wurde je ein Tropfen in eine Reihe der obenbeschriebenen Bier- und Würzekolben eingeführt. Nachdem sie tüchtig geschüttelt und folglich dadurch zugleich gelüftet waren, wurden sie bei 24—25° C. hingestellt.

Nach kurzer Zeit war die Flüssigkeit in allen klar wie vor der Aussaat; aber nach zwei Tagen waren fast alle Würzekolben ganz trübe von sehr kräftig entwickelten Bakterienvegetationen. Die Bierkolben dagegen waren noch nach 16 Tagen fortwährend klar ohne Spur irgend einer Vegetation, und doch hatte, wie gesagt, jeder von ihnen ganz ebenso wie die Würzekolben grofse Mengen lebenskräftiger Bakterien, wenigstens zu Hunderten, empfangen.

Aehnliche Versuche und mit demselben Resultate wurden mit Bakterien, von den Tropfenaussaaten auf Gelatine herrührend, angestellt. Hieraus geht also zuerst die recht interessante Thatsache hervor, dafs die Bakterien des untersuchten Wassers, auch nicht, wenn sie in grofser Menge eingeführt wurden, sich im Bier entwickeln konnten. Was nun die Würze angeht, so bin ich, wenn ich die oben besprochenen Resultate beachte, zu der Ansicht geneigt, dafs die Infektionen nicht durch das reiche Vorhandensein der Wasserbakterien hervorgerufen wurden, sondern vielmehr dadurch, dafs einige derjenigen Arten anwesend waren, welche das specielle Vermögen haben, die genannte Flüssigkeit auch in unverdünntem Zustande angreifen zu können, — wir werden diese Arten Würze-Bakterien nennen.

Mich auf diese Beobachtungen stützend, habe ich bei der Analyse des Alt-Carlsberger-Wassers die folgende Methode in Anwendung gebracht:

In der vorher beschriebenen Weise wurden 15 Bier- und 15 Würzekolben jeder mit einem Tropfen Wasser (0,04 ccm) und 10 Kolben jeder Sorte, jeder mit $^1/_4$ ccm Wasser beschickt, darnach geschüttelt und 14 Tage bei 24 bis 25° C. stehen gelassen. Das Bier, welches in diesen Kolben gebracht wurde, war untergäriges Lagerbier, und die Würze war von der Art, welche in den Brauereien zur Herstellung von solchem Bier benutzt wird (ca. 14% Ball.).

Eine Analyse nach dieser Methode im November ausgeführt, zeigte, dafs 1 ccm des Wassers nur 1,3 Würzebakterien- und 1,3 Schimmelpilzvegetation enthielt, also 2,6 Vegetationen in allem. Andere Vegetationen traten nicht hervor, und das Bier wurde gar nicht angegriffen. Beziehen

wir diese Resultate auf die Praxis, so werden wir also in solchen Fällen zu einem Hektoliter Bier $2^1/_2$ l Wasser geben können, ohne eine Bakterienvegetation hervorzurufen.

Im Dezember 1887 gab 1 ccm Wasser in einer Plattenkultur mit Würzegelatine 38 Bakterienflecken, während $2^1/_4$ ccm von eben derselben Wasserprobe, welche auf 9 der vorerwähnten Kolben mit Würze verteilt wurden, gar keine Bakterienentwickelung gaben, sondern dagegen eine Schimmelvegetation. Der Versuch wurde auf dieselbe Weise, wie die früheren, angestellt. Gleichwie diese belehrte uns aber auch der letzterwähnte Versuch, dafs die zwei Methoden Resultate geben, welche gar nicht übereinstimmen.

In den Fällen, wo eine Probe angestellt wurde, zeigte es sich, dafs man 1 ccm Wasser zu 10 ccm des Bieres setzen konnte, ohne dafs irgend eine andere Vegetation als Schimmelpilze und Pasteur's sogenannte Torula hervorkam, und nicht selten blieb jede Vegetation aus. Dieses wird also mit anderen Worten sagen, dafs die Zugabe von 1 ccm Wasser zu 10 ccm Bier nicht hinlänglich war, um die Desinfektionskraft des Bieres den im Wasser befindlichen Bakterien gegenüber aufzuheben; denn keine von diesen kamen in dem so verdünnten Biere zur Entwickelung.

Es ist selbstverständlich zu empfehlen, eine mikroskopische Untersuchung jeder der in den Kolben entwickelten Vegetationen auszuführen. In mehreren Fällen wird zugleich Veranlassung sein, besondere Züchtungsversuche vorzunehmen, um zu erfahren, in welchem Grade die Arten gefährlich sind.

Alle die Proben haben uns gezeigt, dafs die Gelatinemethode uns viel höhere Zahlen gibt, als die brauereitechnische Methode, und dieses gilt sowohl für Würzegelatine wie für Fleischwasserpeptongelatine. Wir haben ferner ersehen, dafs kein bestimmtes Verhältnis besteht zwischen den Zahlen, welche wir bei Anwendung der beiden Methoden erhalten; wir können daher nichts von der einen auf die andere schliefsen. Und was nun diese zahlreichen Kolonien angeht, welche sich in den Gelatinekulturen entwickeln, so stehen wir hier der traurigen Wahrheit gegenüber, dafs wir, selbst wenn wir jede einzelne von ihnen einer gründlichen mikroskopischen Untersuchung unterziehen, doch nicht imstande sind, zu entscheiden, ob sie Vegetationen, welche die Würze und das Bier anzugreifen vermögen, enthalten oder nicht. Um eine Beantwortung dieser Frage zu erlangen, und darauf läuft ja alles hinaus, müssen wir Züchtungsversuche in diesen Flüssigkeiten selbst vornehmen.

Ein weiterer wesentlicher Einwand gegen die Anwendung von Gelatinen ist der, dafs einige der Mikroorganismen, welche gerade die gröfste praktische Bedeutung für unsere

Analyse haben, sich oft gar nicht darin entwickeln. Dieses gilt z. B. von Essigsäurebakterien, Saccharomyceten und anderen Alkoholgärungspilzen. Durch direkte Versuche mit mehreren hierhergehörenden Arten habe ich erfahren, dafs sie in dem abgeschwächten Zustande, in dem sie im Staub der Luft, in der Erde und im Wasser vorkommen können, in den vorerwähnten Nährgelatinen sich entweder gar nicht entwickeln oder nur eine spärliche Vegetation darin geben, während dagegen ähnliche Zellen von eben denselben Proben eine kräftige Entwickelung gaben, wenn sie in den beschriebenen Kolben mit Würze gesäet wurden. Dasselbe wird wahrscheinlicherweise auch von mehreren anderen Arten gelten als denjenigen, welche geprüft wurden.

Wir haben oben ersehen, dass 1 ccm von einer Wasserprobe in Koch's Plattenkultur uns 1500 Vegetationen gab, während 1 ccm von eben derselben Wasserprobe uns kaum 10 gab, wenn wir statt der Gelatine unsere Kolben mit Würze zur Züchtung anwendeten. Obschon die brauereitechnische Methode uns also verhältnismäfsig sehr kleine Zahlengröfsen gibt, sind doch auch diese zu hoch. Ich werde dieses näher begründen.

Die Bakterien z. B., welche sich in unseren Kolben entwickeln, werden hier jede für sich unter besonders günstigen Verhältnissen gezüchtet und dem hemmenden Einfluſs der Konkurrenz entzogen; falls wir dieselben in eine Portion der gärenden Würze aus den Gärbottichen der Brauerei eingeführt hätten, würde eine grofse Menge von ihnen unterdrückt worden sein. Bei meinen Versuchen mit Torula und anderen Arten von Alkoholgärungspilzen habe ich häufig Gelegenheit gehabt, zu erfahren, dafs Arten, welche, wenn sie in der Würze sich allein befanden, Bier von einem sehr unangenehmen Geschmack hervorbrachten, dessenungeachtet unter den praktischen Verhältnissen im grofsen Betriebe sich als ganz unschädlich erzeigten, indem sie nämlich in der Konkurrenz mit der guten Bierhefe vollständig unterdrückt wurden. Da die erhaltenen Zahlen trotzdem klein sind, hat der Fehler, welchen wir begehen, indem wir auch die letzterwähnten Organismen unter die schädlichen rechnen, indessen nicht viel zu sagen. Dieses gilt jedenfalls von den in dem Vorgehenden besprochenen Analysen. Den im Betriebe obwaltenden praktischen Verhältnissen etwas näher kommen wir, wenn wir die folgende Gruppierung vornehmen. Diejenigen Kolben, in welchen nur Schimmelpilze sich entwickeln, werden für sich abgesondert; denn sie haben nur für die Mälzerei Bedeutung. Ich kenne jedenfalls kein Beispiel davon, dafs zu dieser Abteilung der Mikroorganismen gehörende Arten Krankheiten im Biere hervorgerufen haben. Die übrigen infizierten Kolben werden wieder in zwei Gruppen geteilt; zu der einen führen wir diejenigen hin, in denen die Vegetation schnell hervortrat; zu der anderen

aber jene, in welchen dieses erst nach mehrtägigem Stehenlassen (z. B. nach fünf Tagen und darüber) geschah. Da die Keime in den letztgenannnten Kolben sich so langsam entwickelt haben, haben wir durchaus Grund, zu meinen, dafs sie gar nicht zur Entwickelung gekommen sein würden, wenn sie von Anfang an in die Gärbottiche oder in die Lagerfässer eingeführt worden wären. Es ist mithin nur in derjenigen Gruppe unserer Kulturen, in welcher die Vegetation schnell hervortrat, dafs wir die für das Bier gefährlichen Bakterien und wilden Hefenarten zu suchen haben. Hierdurch werden die gefundenen Zahlen noch kleiner, und wir nähern uns, wie gesagt, noch mehr den praktischen Verhältnissen, wie sie in den Brauereien wirklich statthaben. Dieselben gänzlich nachzubilden, würde natürlich das Ideal sein, läfst sich aber nicht thun. Wir müssen uns damit begnügen, diesem Ziele so nahe gekommen zu sein, wie dies wirklich der Fall ist. Die Frage über die Einwirkung der Konkurrenz stellt sich natürlich auch etwas verschieden, nicht nur nach den verschiedenen Verfahren, nach denen die Brauereien arbeiten, sondern auch nach der im Laufe des Jahres wechselnden chemischen Zusammensetzung der Würze in derselben Brauerei.

Trotz aller dieser Beschränkungen gibt die beschriebene Analyse uns jedoch wertvolle Aufklärungen und zwar, wie wir gesehen haben, von solcher Art, wie wir sie nur auf diesem Wege erreichen können. Von Wichtigkeit ist es hier, zu bemerken, dafs wir durch die Züchtung in unseren Kolben mit Würze Vegetationen erhalten können von allen Mikroorganismen, von welchen wir bis jetzt mit Sicherheit wissen, dafs sie Krankheiten im Bier erregen. Von diesen Krankheits-Mikroorganismen gibt es dagegen, wie wir schon gehört haben, mehrere, die sich gar nicht entwickeln, wenn wir sie im Bier selbst säen. Wenn sie sich bemerkbar machen und die Krankheitserscheinungen hervorrufen sollen, müssen sie in die gärende Würze eingeführt werden. Aus diesem Grunde bekommt somit die Züchtung im Biere geringere Bedeutung für unsere Analysen, und die Züchtung in der Würze wird durchaus die wichtigste.

Wenn wir die beschriebene Methode mit Sorgfalt anwenden, werden wir also dadurch imstande sein, die Feinde zu entdecken, welche unter den mit der Luft und dem Wasser in die Fabrik eingeführten mikroskopischen Wesen etwa zugegen sind. Der Fehler, welchen zu begehen wir Gefahr laufen, ist, wie schon mehrmals hervorgehoben, der, den untersuchten Proben der Luft und des Wassers einen etwas zu schlechten Charakter zu geben.

Es gibt in der Brauerei zwei Punkte, wo kaltes Wasser in einem grofsen Mafsstabe gebraucht wird, ohne doch in direkte Berührung mit

der Würze oder dem Biere zu kommen. Ich denke hier an die Hefewannen im Gärkeller und an das Weichwasser in der Mälzerei.

Es ist ein häufiges Verfahren, die entwässerte Hefe mit kaltem Wasser in den Wannen bedeckt stehen zu lassen. In einigen Brauereien gibt man Eisstücke direkt in die Hefemasse hinein, in anderen ist man vorsichtiger und bringt das Eis in den Deckel der Wanne an; unter allen Umständen sorgt man dafür, eine niedrige Temperatur herzustellen. Falls dies nicht geschähe, würden wahrscheinlicherweise auch die meisten Arten der Wasserbakterien einen günstigen Nährboden an der Hefemasse finden. In der Regel steht die Hefe unter den genannten Verhältnissen nur 12—24 Stunden, selten 48 Stunden. Wenn sie in die Wanne mit dem kalten Wasser kommt, hat die ganze Masse ca. 10° C.; aber nachdem der Deckel mit dem Eise angebracht ist, sinkt die Temperatur binnen einigen wenigen Stunden bis ca. 6° C.

Ich habe mehrmals und bei verschiedenen Jahreszeiten eine solche Hefe untersucht, aber niemals fand ich, wenn hinlänglich für die Eisabkühlung gesorgt war, dafs die Bakterien darin sich in bemerkbarer Weise vermehrt hätten. Und sobald die Hefe in die Würze geführt wird, stellt sich, wie wir soeben gelernt haben, die Wirksamkeit der meisten Bakterien des Wassers vollständig ein. Es wird also nichts zu sagen haben, wenn solche Arten sogar in ziemlich hohem Grade sich in der zwischen den Hefezellen befindlichen Schleimmasse vermehren. Diese bietet nämlich einen günstigen Nährboden für die Entwickelung der weitaus überwiegenden Mehrzahl von Bakterien dar. Dafs wir auch auf diesem Punkte des Betriebes die Vermehrung der Bakterien, welche nur Schaden thun können, fürchten, ist selbstverständlich. In dem Vorhergehenden haben wir diese letztgenannten Arten mit einem gemeinsamen Namen Würze-Bakterien benannt. Wenn solche in dem Wasser, welches mit der Hefe in Berührung kommt, zugegen sind, werden sie sich in der Regel, gleichwie die Wasserbakterien, vermehren, namentlich wenn man die Hefemasse einer zu hohen Temperatur ausgesetzt hat. Da die Würzebakterien aber im Wasser nicht häufig zu sein scheinen (dies galt wenigstens von den von mir untersuchten Proben), so wird die Gefahr auf diesem Punkte unter gewöhnlichen Brauereiverhältnissen gewifs keine sehr grofse sein. In der Regel wird die Hefe selbst von der letzten Gärung in der Würze einige Würzebakterien mit sich bringen. Während der kräftigen Alkoholgärung in den Gärbottichen können diese nicht zur Entwickelung kommen, aber dieses wird in den Hefewannen stattfinden, sobald man die Abkühlung versäumt. Ich bin defshalb zu der Ansicht geneigt, dafs die Hefe selbst in der Regel gröfsere Gefahren auf diesem Punkte mit sich führt als das Wasser. Sicher ist es jedenfalls, dafs man es nicht genau genug überwachen kann, dafs

die Hefe in den Zwischenräumen, in welchen sie nicht in Wirksamkeit in den Gärbottichen ist, eine niedrige Temperatur hat. Dieses ist hier die Hauptsache. Dafs steriles Wasser jedoch auch zur Entwässerung der Hefe vorzuziehen ist, brauche ich kaum hervorzuheben, obwohl ich, wie bemerkt, der Ansicht bin, dafs es in der Regel nicht notwendig sein wird.

Ich habe auch nicht speziell Rücksicht auf die Mälzerei genommen, und zwar defshalb, weil ich der Meinung bin, dafs es überflüssig sein dürfte. Die Gerstenkörner haben nämlich schon an ihrer Oberfläche einen Reichtum von Bakterien und anderen Mikroorganismen, ehe sie in Berührung mit dem Weichwasser kommen; ein Mehr oder Weniger, wie gewöhnliches Wasser es mit sich bringen kann, wird daher in diesem Falle schwerlich Bedeutung haben können. Hauptsächlich sind es ja auch die Schimmelpilze, die in der Mälzerei gefürchtet sind, und sie werden sich auch in den zur Analyse verwendeten Bier- und Würzekolben entwickeln, falls sie sich in den untersuchten Wasserproben befinden.

Die bakteriologische Wasseranalyse ist noch immer in Entwickelung begriffen und hat bisher zwar keine grofsen praktischen Resultate aufweisen können, doch ist es zweifelsohne richtig, sie nicht zu vernachläfsigen. Wir dürfen hier aber nicht vergessen, dafs das Resultat, welches eine Analyse einer einzelnen Probe uns gibt, nur einen sehr bedingten Wert hat; denn wir erhalten dadurch nur Aufklärung über das Wasser zu der Zeit, wo die Probe genommen wurde. Grofsen Schwankungen ist aber die Beschaffenheit ein und desselben Wassers unterworfen, je nach der Jahreszeit, ja je nach den Stunden des Tages; und wo es, wie in den meisten Brauereien, in grofse Behälter aufgepumpt wird, kommt es auch viel darauf an, ob man die Probe kurz vor oder nach der Reinigung des Behälters nimmt u. s. w. Wünschen wir also etwas Genaueres über die Beschaffenheit eines Wassers zu wissen, müssen wir eine gröfsere Reihe von Analysen und zwar innerhalb eines gröfseren Zeitraumes verteilt ausführen.

Meine zymotechnischen Untersuchungen über die Mikroorganismen der Luft und des Wassers sind wohl mit besonderer Rücksicht auf die in den Untergärungs-Brauereien vorhandenen Verhältnisse ausgeführt, aber in den grofsen Zügen werden die Resultate auch für diejenigen Fabriken, welche die Obergärung anwenden, Giltigkeit haben.

Seitdem ich i. J. 1887—89 die vorstehenden Untersuchungen über Brauereiwasser veröffentlichte, sind in verschiedenen Zeitschriften mehrere Mitteilungen erschienen, die in derselben Richtung gehen; hierzu gehören gleichfalls Holms „Biologische und gärungstechnische Analysen des Brauwassers“ in den Mitteilungen des Carlsberger-Laboratoriums III. Bd. 2. Heft 1892. Es ist wohl auch schwerlich länger ein Zymotechniker,

welcher die Anwendung von Fleischwasserpeptongelatine zu Analysen von Wasser empfehlen würde, wenn die Frage gestellt wird, ob dasselbe zu Brauereizwecken gut ist oder nicht. Insoweit ist meine vorliegende Arbeit also nicht umsonst gewesen.

Juli 1892.

Nachschrift.

Nachdem die vorstehende Abhandlung schon längst in der Druckerei war, erschien Dr. Wichmann's „Biologische Untersuchungen des Wassers für Brauereizwecke" in den „Mitteilungen der österr. Versuchs-Station, V. Heft." Wien 1892. Wichmann hebt darin die Bedeutung hervor, welche es hat, die Zeit, in welcher die Zerstörung der Probeflüssigkeit eintritt, bei der Beurteilung zu berücksichtigen. In meiner ersten Abhandlung von 1888 hatte ich dieses Moment nicht in die Analyse hineingezogen; später aber ist dies geschehen. Angaben darüber finden sich nicht nur in meiner oben stehenden Abhandlung, sondern sind zugleich nach meinen Vorlesungen schon in Jörgensen's „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie" 3. Ausg. S. 45, sowie in Holm's oben erwähnte Abhandlung aufgenommen worden.

Dr. Wichmann hat also dieselbe Idee wie ich gehabt; er hat sie aufserdem in selbständiger Weise durchgearbeitet. Ich ergreife mit Freude die Gelegenheit, die Aufmerksamkeit auf seine verdienstvollen Untersuchungen hinzulenken.

II.

Was ist die reine Hefe Pasteur's?

Eine experimentelle Untersuchung.[1])

1.

Bei den physiologischen Experimenten, welche ich in den Jahren 1879 und 1880 mit Saccharomyces apiculatus ausführte, stellte ich noch die notwendigen Reinkulturen nach den in Pasteur's „Études sur la bière" angegebenen Prinzipien her. Über das Verfahren selbst teilte ich

[1]) Obzwar der Inhalt der gegenwärtigen Abhandlung hauptsächlich theoretischer Natur ist, habe ich doch geglaubt, dieselbe in meinen gesammelten Schriften über die Praxis der Gärungsindustrie aufnehmen zu sollen. Es sind zwei Gründe, welche mich dazu bewogen: Erstens ist ein grofses praktisches Interesse an die hier behandelte Hauptfrage, nämlich die Frage, was unter einer reinen Brauereihefe zu verstehen sei, geknüpft; und zweitens haben die Resultate, welche meine Untersuchungen über den Einfluſs, welchen eine Behandlung mit Weinsäure auf die Brauereihefe ausübt, gebracht haben, eine direkte praktische Bedeutung.

folgendes mit[1]): „In einer gröfseren Anzahl Kochflaschen mit sterilisierter Würze als Nährflüssigkeit werden Früchte angebracht, von denen man von vornherein vermutet, dafs Saccharomyces apiculatus sich darauf befindet, jedoch nur eine Frucht in jeder Flasche, und es werden ferner nur solche gewählt, deren Oberfläche nicht mit Schimmelpilzen bewachsen oder zu unrein ist, was das Auge mit ein wenig Übung schnell entdeckt. Eine oder mehrere dieser Flaschen enthält in der Regel nach ein paar Tagen eine üppige und ziemlich reine Vegetation des gewünschten Hefepilzes. Ob Bakterien da sind oder nicht, hat geringere Bedeutung; denn über diese wird man gewöhnlich ziemlich leicht durch Kultur in sauren Flüssigkeiten Herr werden. Schwieriger stellt sich die Sache, wenn zugleich mit Saccharomyces apiculatus auch andere Hefen- oder Schimmelpilze auftreten. In solchen Fällen wird es am richtigsten sein, von dem Versuch sogleich abzustehen und wieder von vorn anzufangen. Hat man auf die beschriebene Weise eine brauchbare Kultur erhalten, so wird diese zur Infektion eines Pasteur'schen zweihalsigen Kolbens, welcher sterilisierte Würze mit ein wenig Weinsäure enthält, benutzt. Nach ein paar Tagen ist die Gärung im Gang, und die alte Nährflüssigkeit wird nun von der Hefe, die auf dem Boden des Kolbens liegt, abgegossen, wonach neue Flüssigkeit derselben Art zugesetzt wird, Alles mit gehöriger Vorsicht, damit Organismen von aufsen her nicht eindringen. Wenn man diese Operation einige Male wiederholt, kann man zuletzt eine vollständige Reinkultur erhalten." — Ungeachtet der Unvollkommenheit der Methode konnte ich mich mit einer solchen Sicherheit äufsern, weil die genannte Art in mehreren Beziehungen sehr charakteristische Kennzeichen darbietet. Sie ist nämlich eine der wenigen Hefenarten, welche wir wegen der eigentümlichen Form der Zellen durch eine einfache mikroskopische Untersuchung bestimmen können; hierzu kommt noch, dafs sie auch in physiologischer Beziehung mehrfach eigentümlich ist. Wenn man mit dieser Art arbeitet, ist es überhaupt möglich, auf einer jeden Stufe des Versuches eine Kontrolle auszuführen, wodurch man entscheiden kann, ob eine Reinkultur vorhanden ist oder nicht. Nichts von diesem Allen gilt von Hefenzellen mit endogener Sporenbildung, den echten Saccharomyceten[2]), und eben diese wünschte ich wegen ihrer grofsen theoretischen und praktischen Bedeutung einem eingehenden Studium zu unterziehen. Auf diesem Gebiete war es nicht möglich, auf den Wegen, welche meine Vorgänger betreten hatten, weiter zu kommen. Um überhaupt in den Stand gesetzt zu werden, mit den Aufgaben, welche

[1]) Emil Chr. Hansen: Über Saccharomyces apiculatus und dessen Kreislauf in der freien Natur. (Mitteilungen des Carlsberger Laboratoriums. I. Bd. 3. Heft.)

[2]) Die einzige Ausnahme hiervon bilden ein paar in der jüngsten Zeit entdeckte Arten.

ich mir gestellt hatte, zu beginnen, mufste ich also vorerst eine exakte Methode zur Herstellung der notwendigen Reinkulturen ausarbeiten. Ich wurde auf diese Weise eigentlich wider meinen Willen dazu gezwungen, mich einige Jahre hindurch mit Studien über diesen Zweig der bakteriologischen Technik zu beschäftigen; erst nachdem ich diese durchgeführt hatte, konnte ich diejenigen Aufgaben, welche für mich die Hauptsache waren, recht in Angriff nehmen.[1])

In meinen ersten Abhandlungen über die Alkoholgärungspilze beschränkte ich mich darauf, die neuen Resultate, welche ich erhalten hatte, mitzuteilen, und ich dachte damals gar nicht daran, dafs es notwendig werden könnte, die Fehler meiner Vorgänger hervorzuziehen und deutlich hervorzuheben, worin die Fortschritte bestehen, welche meine Arbeiten gebracht haben. Meine Gegner haben mich allmählich darüber belehrt, dafs die von mir benutzte Darstellungsweise nicht genüge, wenn es sich darum handelt, einer neuen Sache Fortgang zu schaffen. In den letzten Jahren bin ich wieder daran erinnert worden durch die von französischer Seite, besonders von Duclaux und Velten, gegen mich gerichteten Angriffe.

Duclaux versucht es nachzuweisen, dafs die von Pasteur in dem obgenannten Werke vor mehr als 16 Jahren angegebenen Methoden zur Darstellung von Reinkulturen von Hefenzellen Genüge leisten.[2]) Namentlich verweilt er bei der Verfahrungsweise, welche darin besteht, dafs man die betreffende Hefeprobe in einer Lösung von 10% Saccharose, die mit ein wenig Weinsäure versetzt ist, züchtet. Um Beweise von der Richtigkeit seiner Behauptung zu finden, untersuchte er einige der alten Kolben Pasteur's, welche Hefenvegetationen enthielten, teils in Bierwürze, teils auch in der genannten Zuckerlösung mit Weinsäure, und welche in Pasteur's Laboratorium gestanden hatten, seitdem dieser im Jahre 1876 diese Studien aufgab; einige waren zu der Zeit, wo sie geprüft wurden, 17 Jahre alt. Bei der Untersuchung von 19 Kolben fand Duclaux, dafs 14 davon Reinkulturen enthielten; hinsichtlich drei Kolben ist er dessen nicht ganz sicher, nimmt aber an, dafs auch diese doch nur je eine Spezies enthielten; von zwei Kolben, in denen Brauereihefe sich befand, berichtet er, dafs in jedem zwei Arten vorhanden waren. Er meint nun, dafs diese alten Kolben dargethan haben, dafs die angegebene Reinzuchtmethode eine exakte sei. Wenn es so wäre, hätte ich mir also einen grofsen Irrtum zu schulden kommen lassen und meine Zeit mit nutzlosen Arbeiten vergeudet.

[1]) Über meine Methoden zur Darstellung der Reinkultur siehe das I. Heft meiner „Untersuch. aus der Praxis der Gärungsindustrie". Zweite Ausg. S. 8.

[2]) E. Duclaux, Sur la conservation des levures. (Annales de l'Inst. Pasteur. 1889, p. 375.)

Gegen die Beweisführung Duclaux' wurde von Miquel (Annales de Micrographie, 1889, pag. 140), Alfred Jörgensen (Botan. Centralbl., XL. Bd., 1889, pag. 316) und Denamur (La Gazette du Brasseur, 1889, pag. 887) sogleich derselbe gewichtige Einwand erhoben, nämlich der, dafs es ja schlechterdings unmöglich ist, nach so langer Zeit sichere Auskunft darüber zu erhalten, welche Vegetationen die alten Kolben von der Hand Pasteur's empfangen haben. Kolben, welche im Augenblicke nur eine einzige Spezies enthalten, können sehr wohl ursprünglich deren mehrere enthalten haben; kurz, wir vermögen nicht, die Arten zu entdecken, welche im Laufe der Jahre etwa abgestorben sind. Wenn Duclaux nun durchaus die alten Pasteur'schen Methoden hervorzuziehen wünschte, so wäre es richtiger gewesen, wenn er durch theoretische Untersuchungen und praktische Proben uns gezeigt hätte, was diese Methoden wirklich vermögen. Die Untersuchung der alten Kolben gibt, wie gesagt, in Wirklichkeit keinen Aufschlufs darüber. Im folgenden gedenke ich zuerst eine theoretische Erörterung über die Tragweite der Methode anzustellen und sodann durch Experimente darzuthun, was damit erreicht werden kann.

Die oben berührten Untersuchungen von Duclaux lehren uns, dafs mehrere Arten in ein und demselben Kolben sogar 15—17 Jahre lang in Frieden beisammen leben können. Unter solchen Umständen kann selbstverständlich von einer Reinkultur gar nicht die Rede sein, und wir haben also hier Fälle vor uns, in welchen die Methode nicht Stich hält. Ich gebe gern zu, dafs sich Hefenarten finden, welche unter den erwähnten Verhältnissen eine verschiedene Lebenskraft haben, und wenn ein Gemisch von solchen in einem Kolben vorhanden ist, wird natürlich der Zeitpunkt kommen, wo alle schwächeren Arten abgestorben sind, und nur die stärkste noch übrig geblieben ist. Es fragt sich aber jetzt: woran ist zu erkennen, wann dieser Zeitpunkt gekommen ist, und durch welche Kennzeichen läfst es sich mit Sicherheit entscheiden, ob im Kolben ein oder mehrere Spezies sind. Wenn die Methode eine exakte genannt werden soll, müssen solche Anforderungen gestellt werden; aber Auskünfte in dieser Hinsicht geben indes weder Pasteur noch Duclaux. Es mufs daher offen gesagt werden, dafs die Methode schon aus diesem Grunde eine höchst unsichere ist, und dafs man bei Anwendung derselben in Wirklichkeit mehr oder weniger dem Zufall ausgesetzt ist und blindlings arbeitet.

Sehen wir in dem citierten Werke von Pasteur pag. 224 bis 228 genauer nach, so finden wir, dafs er im Ganzen genommen die Grenzen erkannt hat, und dafs er selbst eingesehen hat, dafs auf den von ihm eingeschlagenen Wegen nur eine bedingte Sicherheit erreichbar war. Um eine Reinkultur zu erhalten, wendet er daher auch keine einzelne Methode, sondern mehrere an, und

sagt, dafs man in den verschiedenen Fällen bald eine, bald eine andere benutzen, überhaupt versuchsweise zu Werke gehen müsse; eine bestimmte Regel gibt er nicht. Nachdem er die verschiedenen Verfahrungsweisen beschrieben hat, spricht er sich folgendermafsen aus: „Durch diese verschiedenen Kunstgriffe, jeden für sich oder kombiniert, gelingt es in der Regel, die zu reinigende Hefe in einem sehr reinen Zustande zu bekommen". Von Reinkulturen in dem Sinne, in welchem wir dieses Wort jetzt fassen, ist also gar nicht die Rede. Wenn er die von ihm mit Alkoholgärungspilzen angestellten Versuche beschreibt, sagt er auch an mehreren Stellen in seinem Werke, z. B. pag. 179 und in der Note pag. 205, dafs es ihm nicht möglich war, zu entscheiden, ob er in jedem seiner Kolben eine oder mehrere Spezies habe. Pasteur sucht sein Ziel dadurch zu erreichen, dafs er in einer Reihe von Kulturen soviel als möglich den Organismus, welchen er allein übrig zu behalten wünscht, begünstigt und gleichzeitig die Entwickelung des- oder derjenigen, welche er beseitigen will, zu hemmen sucht. Bei einem derartigen Züchten kann man natürlich nur diejenigen Arten unterdrücken, welche unter den gegebenen Ernährungsverhältnissen die Konkurrenz mit der begünstigten nicht auszuhalten vermögen. Aber beisammen mit dieser Art kann ja sehr wohl eine ganze Schaar von anderen leben, nämlich alle diejenigen, welche ungefähr dieselben Ernährungsbedingungen haben, wie diese. Die Prinzipien derartiger Reinzucht sind rein physiologischer Natur und setzen eigentlich voraus, dafs man die Eigentümlichkeiten der Arten, mit welchen man arbeitet, schon im voraus kennt; da wir aber, wenn wir Reinkulturen darzustellen wünschen, in den weitaus meisten Fällen unbekannten Gröfsen gegenüber stehen, so leuchtet es ein, dafs die hierauf bezüglichen Verfahrungsweisen in der Regel keine Sicherheit geben können. Sie lassen sich vielmehr nur in solchen seltenen Fällen zur Anwendung bringen, wo die betreffenden Arten mit so deutlichen Charakteren ausgestattet sind, dafs sie nicht leicht mit anderen verwechselt werden können, und wo die Möglichkeit einer Kontrolle vorhanden ist. Einen Fall dieser Art beschrieb ich im Anfange dieser Abhandlung, indem ich meiner älteren Studien über Saccharomyces apiculatus erwähnte.

Nach dem Veröffentlichen der vorerwähnten Abhandlung in den Annales de l'Institut Pasteur hat Duclaux sich wieder über diese Fragen ausgesprochen, nämlich bei dem französischen Brauerkongrefs in Paris 1889 (Le génie civil, pag. 110) und bei dem Kongrefs in Lille 1890 (La Gazette du Brasseur, pag. 447, Nr. 141, 1890). Er erkennt hier, dafs meine Methode einen wirklichen Fortschritt bezeichnet, und dafs meine Arbeiten eine Reform in der Brauereigärung hervorgerufen haben. Letzteres räumt er jedoch nur in Betreff der Untergärung ein; was die Obergärung angeht, tritt er noch für die Einführung der alten

Pasteur'schen Methoden auf diesem Gebiete ein. Diese Vorträge sind in Zeitschriften, die nur in einem beschränkten Kreise gelesen werden, veröffentlicht worden, und folglich sind die meisten Leser nur durch die Annales de l'Institut Pasteur mit seiner Auffassung der Reinzuchtfragen bekannt geworden.

Wenn mein berühmter Kollege seine neuen Ansichten auch in der letztgenannten Zeitschrift veröffentlicht hätte, wäre ich, obgleich ebenfalls in diesen mehrere unrichtige Behauptungen sind, wahrscheinlich enthoben gewesen, mich nochmals mit diesen alten Sachen zu beschäftigen.

Die Frage, inwiefern meine Methode in Obergärungsbrauereien anwendbar ist oder nicht, ist in bejahender Richtung entschieden worden, in Dänemark durch Alfred Jörgensen's Versuche, in Australien durch die von De Bavay und in der jüngsten Zeit in Nord-Frankreich und in Belgien durch Versuche von Kokosinski, van Laer und Vuylsteke (Station scientifique de brasserie. Comptes-rendus. Gand 1890, pag. 13—21; La Gazette du Brasseur, Bruxelles 1890).

In Frankreich selbst ist meine Methode jetzt laut des Berichtes von Kokosinski in 15 Obergärungsbrauereien mit Erfolg eingeführt worden, ihre Anwendung ist somit nicht, wie Duclaux glaubt, auf die Untergärungsbrauereien beschränkt. Siehe übrigens den nachstehenden Aufsatz über die jetzige Verbreitung meines Systems der Hefe-Reinzucht.

Velten begann seine Angriffe gegen mich in seinen bei der französischen Brauereiausstellung in Paris 1887 (Revue universelle de la Brasserie et Malterie, 1888, Nr. 742 und 743) gehaltenen Vorlesungen und wiederholte dieselben auf dem Kongreſs in Antwerpen 1889 (siehe Bericht pag. 82). Er behauptet, daſs ich mich völlig geirrt habe, indem ich eine aus einer einzigen Art oder Rasse bestehende Hefe in den Brauereibetrieb einführte; seiner Ansicht nach soll die Brauereihefe nämlich aus mehreren bestehen, und er drückt sich darüber aus, wie folgt: „Die Vermischung dieser reinen Hefenarten, verschieden hinsichtlich ihrer Rasse und Natur, ist es, welche bewirkt, daſs das Bier den erwünschten Geschmack und das Bouquet erhält". Dieses, behauptet er, erlange man durch Anwendung von Pasteur's Verfahren, nämlich durch Züchten der Hefe in einer Rohrzuckerlösung, wozu ein wenig Weinsäure gethan ist, oder in Würze, mit Karbolsäure und Alkohol versetzt. Eine genauere Beschreibung des Verfahrens gibt er in den obengenannten Vorlesungen nicht; wenn wir aber weiter in der Zeit zurückgehen, finden wir eine solche in den Vorlesungen, welche er bei der Weltausstellung in Paris 1878 hielt. Er hat diese später unter folgendem Titel herausgegeben: De la fabrication de la bière par le procédé Pasteur. Conférence faite par Eugène Velten au Congrès inter-

national des brasseurs de Paris en 1878 (Revue universelle de la Brasserie, Paris 1881, Nr. 372). Sie sind auch in dem von dem Kongrefs herausgegebenen Hefte enthalten. Darin sagt er: „Wenn man zu einer der Entwickelung von Alkoholgärungspilzen günstigen Zuckerlösung eine Säure setzt, verhindert man dadurch die Entwickelung von Krankheitsfermenten. Die Essigsäurebakterie kann allerdings in einer saueren Flüssigkeit leben, aber zu ihrer Entwickelung bedarf sie einer hohen Temperatur; die übrigen Krankheitsfermente leben dagegen nicht in einer sauren Flüssigkeit. Zur Reinigung der Brauereihefe kann man 4—5% Säure (z. B. Weinsäure) verwenden. Nach 4—5 in dieser Flüssigkeit ausgeführten Kulturen kann man sicher sein, dafs die Hefe rein ist; die Alkoholgärungspilze bleiben als die kräftigsten und zahlreichsten allein übrig". Pasteur, sagt Velten, wendet 4 solche Kulturen an, und jede dauert 48 Stunden. Dem Obigen zu Folge ist also die Beseitigung der Bakterien der einzige Zweck dieser Reinigung der Hefe, und es wird gesagt, dafs die so gereinigte Hefe aus mehreren Hefenarten besteht. Duclaux hat ebenfalls diese Methode zur Reinigung der Brauereihefe in seiner Chimie biologique 1883 p. 301 aufgenommen, er empfiehlt aber einen schwachen Zusatz von Weinsäure.

Kurz nachdem Pasteur im Jahre 1876 seine berühmten Studien über das Bier herausgegeben hatte, wurden vom verstorbenen Kapitän J. C. Jacobsen auf Alt-Carlsberg und von Herrn Carl Jacobsen auf Neu-Carlsberg Versuche angestellt mit den darin angegebenen Verfahrungsweisen zur Reinigung der Brauereihefe, darunter auch mit Weinsäure und Karbolsäure; sie gaben aber kein günstiges Resultat und wurden daher vollständig aufgegeben. Dies war auch der Fall in den Brauereien im Auslande, in welchen ähnliche Proben angestellt wurden. Selbst in Frankreich fanden die Pasteur'schen Methoden keinen Eingang. Velten ist gegenwärtig der einzige Brauer, welcher dieselben empfiehlt, und auch er hat sie nicht beständig befolgt, was aus seinen eigenen Mitteilungen darüber hervorgeht (Wochenschrift für Brauerei, Berlin 1886, S. 5).

Velten hat als Pasteur's alter Mitarbeiter auf dem Gebiete des Brauwesens einen angesehenen Namen; dieses hat seinen Angriffen, wie schlecht begründet sie auch sind, ein gewisses Gewicht verliehen. Weder er noch meine anderen französischen Gegner haben es vermocht, die Brauereien dazu zu bewegen, die alten Pasteur'schen Methoden aufzunehmen; aber sie haben an mehreren Orten Mifstrauen gegen mich und die Reform, für welche ich kämpfe, erweckt, und dadurch namentlich bewirkt, dafs dieselbe in Frankreich viel langsameren Fortgang gehabt, als dies sonst der Fall gewesen wäre.

Als ich vor zehn Jahren meine ersten Mitteilungen über die Herstellung absoluter Reinkulturen veröffentlichte, hatte ich schon längst

zahlreiche Versuche über die erwähnten Pasteur'schen Methoden angestellt, beschränkte mich aber auf eine kurze theoretische Besprechung in wenigen Zeilen und glaubte, dafs die Sache hiermit abgethan sei. Dafs diese meine Auffassung eine irrtümliche war, haben, wie gesagt, die Angriffe bewiesen. Indem ich wider meinen Willen gezwungen wurde, mich aufs neue mit diesen Fragen zu beschäftigen, sah ich sogleich ein, dafs ich, sofern ich damit zu Ende kommen wollte, mich nicht auf eine theoretische Besprechung beschränken konnte, sondern dafs ich wieder Versuche anstellen mufste. Bei diesen sind die Herren Assistenten Holm und Nielsen mir behilflich gewesen, und namentlich ist ein grofser Teil der Analysen von Herrn Holm ausgeführt worden. Ich bestrebte mich dann, wie ich pflege, der Frage auf den Grund zu kommen, dieselbe von verschiedenen Gesichtspunkten aus zu studieren. Eine Freude ist es mir gewesen, dafs die grofse Sorgfalt, welche ich und meine Assistenten auf diese Arbeit verwendeten, nicht blofs dadurch Bedeutung bekam, dafs sie die unrichtigen und anmafsenden Behauptungen meiner Gegner berichtigte, sondern auch neue Aufschlüsse brachte, die sowohl praktisches als theoretisches Interesse darbieten.

Die Versuche bilden zwei Gruppen; die erstere, welche die vier ersten Versuche umfafst, berücksichtigt zunächst die theoretische Seite der Frage; die letztere, wozu die übrigen Versuche gehören, bezwecken dagegen, die Behauptungen Velten's zu prüfen; beide beleuchten sich gegenseitig.

2.

Erster Versuch.

Eine 10% wässerige Saccharoselösung, mit $^1/_{20}$% Weinsäure versetzt, wurde in Pasteur'sche zweihalsige Kolben eingeführt und sterilisiert. Nach dem Abkühlen wurden diese Kolben mit den unten angeführten Hefearten in absoluten Reinkulturen inficiert[1]). Die angewendeten Vegetationen stammten von 10tägigem Züchten in Würze bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Es wurde eine ziemlich reichliche Hefemenge in jeden Kolben eingeführt und eine möglichst gleiche Portion von jeder Hefeart.

In *A*: Sacch. cerevisiae I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

In *B*: Carlsberg Unterhefe Nr. 1, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

[1]) Eine Beschreibung dieser sowie der im nachfolgenden erwähnten Arten findet sich an verschiedenen Stellen in meinen „Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der Alkoholgärungspilze". In übersichtlicher Form sind dieselben in Jörgensens Buch: „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie", 3. Ausgabe, Berlin 1892, und in Zopfs Handbuch „Die Pilze", Breslau 1890, zusammengestellt.

In *C*: Carlsberg Unterhefe Nr. 1, Carlsberg Unterhefe Nr. 2, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

Die Kolben wurden sodann bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestellt. Nachdem sie einen Monat gestanden hatten, wurden sie geschüttelt und kleine Durchschnittsproben in ähnliche Kolben, welche dieselbe Flüssigkeit enthielten, übergeführt; von diesen aus wurde einen Monat später eine neue Reihe inficiert, und diese letzte Kultur stand darnach wieder einen Monat. Durch Überführen solcher Durchschnittsproben werden die etwa im Übergewichte vorhandenen Arten noch mehr begünstigt, und eine Reinkultur wurde mithin auch dadurch vorbereitet.

Nachdem dieses Züchten im ganzen drei Monate gedauert hatte, war es die Aufgabe, zu bewirken, dafs die etwa noch lebenden Zellen neue Vegetationen entwickelten, und demnächst auszufinden, welche Arten in jedem Kolben noch am Leben waren. Aus jedem Kolben wurden zu diesem Zwecke Durchschnittsproben in zwei andere Kolben, von denen die eine Bierwürze und die andere eine Lösung von 10 Proc. Dextrose in Hefewasser enthielt, übergeführt. Diese Kolben wurden bei 25° C. gestellt, und sobald eine Vegetation sich entwickelt hatte, wurden davon Durchschnittsproben genommen zu fraktionierten Kulturen in Gelatine, zu welcher in dem einen Falle Würze, im andern die erwähnte Lösung von Dextrose in Hefewasser gesetzt war. Die Kolben, welche die Reste der Vegetation in der Würze und im Dextrose-Hefewasser enthielten, wurden danach bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestellt, bis die Hauptgärung zu Ende war, worauf von neuem Durchschnittsproben zu ähnlichen fraktionierten Kulturen, wie die oben erwähnten entnommen wurden. Solche wurden auch mit Durchschnittsproben, direkt aus den Vegetationen entnommen, welche drei Monate unter den beschriebenen Züchtungsverhältnissen in der Zuckerlösung zugebracht hatten, ausgeführt. Die Proben wurden also mit drei verschiedenen Entwickelungsphasen der betreffenden Hefevegetation angestellt. Die Gelatineplatten mit den darin ausgesäeten Hefezellen wurden einem Wärmegrade von 25° C. ausgesetzt, bis zahlreiche Vegetationsflecken sich darin entwickelt hatten. Von diesen Flecken aus wurden danach eine gröfsere Anzahl Kolben, welche Bierwürze enthielten, inficiert; aufserdem wurden die Flecken selbst einer mikroskopischen Untersuchung unterworfen. Die Vegetationen, welche sich in den letzt erwähnten Kolben mit Würze entwickelten, wurden gleichfalls mikroskopisch untersucht und überhaupt auf die Charaktere geprüft, von welchen ich im voraus wufste, dafs sie den betreffenden Hefearten eigentümlich waren. Es folgt von selbst, dafs immer nur sterilisierte Flüssigkeiten und Nährgelatine zur Verwendung kamen, und dafs mit einer solchen Sorgfalt gearbeitet wurde, dafs eine Infektion von aufsen nicht stattfinden konnte.

Als Resultat ergab sich, dafs von den sechs Hefearten, welche am Anfang des Versuches in den drei Kolben mit der Lösung von Saccharose und Weinsäure ausgesäet wurden, jetzt nur noch zwei Arten am Leben befunden wurden, nämlich Saccharomyces ellipsoideus II und Saccharomyces Pastorianus I; erstere hatte in allen Kolben ausgehalten, letztere nur in einem oder vielleicht in zwei. Mit Sicherheit konnte Saccharomyces Pastorianus I nur in einem der Kolben, und zwar nur nach Züchten in der Dextrose-Hefewasserlösung, nachgewiesen werden. Saccharomyces ellipsoideus II hatte sich also unter den beschriebenen Züchtungsverhältnissen als die kräftigste erwiesen, aber auch nicht in Bezug auf diese Art gab die Methode irgend welche Sicherheit einer Reinkultur.

Zweiter Versuch.

Dieser wurde auf dieselbe Weise wie der erste angestellt; während aber in diesem die Hefe aus zehn Tage alten Kulturen stammte, wurden jetzt ganz junge Vegetationen angewendet, welche durch 24stündiges Züchten in Würze bei 25° C. gezüchtet waren. Übrigens war das Verfahren dasselbe, und das Endergebnis des Versuchs wurde gleichfalls dasselbe.

Dritter Versuch.

Er wurde im wesentlichen auf dieselbe Weise wie die beiden vorhergehenden angestellt, aber nur mit einem Kolben als Ausgangspunkt. Die Aussaat bestand aus Carlsberg Unterhefe Nr. 1, Sacch. cerevisiae I und Sacch. Pastorianus III.

Die Versuchsordnung unterschied sich von der bei den beiden vorigen Versuchen befolgten dadurch, dafs das Züchten in der Lösung von Rohrzucker und Weinsäure nur im Laufe von vier Wochen stattfand, und in dieser Zeit wurden auf die beschriebene Weise vier Kulturen mit ungefähr denselben Zeitzwischenräumen vorgenommen. Als hierauf untersucht wurde, welche Arten noch am Leben waren, zeigte es sich, dafs dieses mit Sacch. cerevisiae I und Sacch. Pastorianus III der Fall war. Erstere trat namentlich beim Züchten in Bierwürze hervor, während letztere sich dagegen nur nach dem Züchten in einer Lösung von Dextrose und Hefewasser zeigte. In diesem Falle war also auch keine Reinkultur erreicht worden.

Vierter Versuch.

Die Züchtung in der Lösung von Saccharose mit Weinsäure dauerte in diesem Falle einen Monat, und es wurde während dieser Zeit nur ein Umgiefsen vorgenommen, nämlich nach 14tägigem Stehen. Der Versuch wurde mit zwei Kolben begonnen, und sind in jedem die folgenden drei Arten

eingeführt worden, nämlich: Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoideus II. Sie stammten alle aus lebenskräftigen, wiewohl drei Monate alten Vegetationen auf einer Nährgelatine, welche mit Fischabsud und Saccharose versetzt war. Am Abschlufs des Versuches wurde in beiden Kolben Sacch. ellipsoideus II und nur dieser allein gefunden.

Die Zuchtmethoden, welche verwendet wurden, um die Arten, welche die beschriebene Behandlung in der Zuckerlösung überlebt hatten, dazu zu bringen, dafs sie Vegetationen entwickelten und sich dadurch zu erkennen gaben, sind solche, von welchen ich durch mehrjährige Erfahrung weifs, dafs sie für die genannten Arten günstig sind.

Wenn ich eine noch gröfsere Anzahl Züchtungen in Gang gesetzt und diese auf noch mehrere verschiedene Weisen variiert hätte, würde ich wahrscheinlich Aussicht darauf gehabt haben, wenigstens einige der Arten hervorzubekommen, welche jetzt abgestorben zu sein schienen. Wo die Grenze hier ist, läfst sich nicht entscheiden. Auch einige der Flecke in den Gelatinekulturen können sehr wohl mehr als je eine Art enthalten haben. Kurz, es ist wahrscheinlich, dafs mehr Arten lebendig gewesen sind als diejenigen, welche gefunden wurden. Die beobachteten müssen also zunächst als diejenigen aufgefafst werden, welche im absoluten Übergewichte da waren. Allein, selbst wenn wir annehmen, dafs diejenigen Kolben, in welchen wir nur eine lebendige Art fanden, auch nur diese enthalten haben, so wird das Hauptresultat doch dieses, dafs die beschriebene Verfahrungsweise uns keine Sicherheit gibt, eine Reinkultur zu erhalten. Von neun Kolben enthielten drei am Schlufs der Versuche je zwei Arten; in zwei Versuchen wurde die Behandlung jedoch drei Monate hindurch fortgesetzt. Anderseits ist es nicht unwahrscheinlich, dafs man, wenn man noch weiter ginge, dazu gelangt wäre, dafs alle die Arten, mit welchen bei einem Versuche experimentiert wurde, mit einer einzigen Ausnahme abstürben; dieses gilt namentlich bei den ersten beiden Versuchen von Sacch. ellipsoideus II. Aber es ist nichts da, was uns in dieser Beziehung leiten könnte; wir haben, wie oben hervorgehoben wurde, keinen Anhaltspunkt oder ein Kennzeichen, durch welches wir entscheiden können, ob der Punkt erreicht ist oder nicht, und wenn wir darüber hinausgehen, laufen wir Gefahr, dafs alles Leben erlischt. Kurz, es ist und bleibt ein Arbeiten aufs Geratewohl und kann nie eine exakte Methode werden.

Die Hauptschwierigkeiten bei der Anwendung des physiologischen Verfahrens zu dem gedachten Zwecke ist, wie ich schon bemerkt habe, die, dafs wir ja im voraus nicht wissen, wie die Arten, mit welchen wir arbeiten, sich in der genannten Hinsicht stellen werden; aber selbst

wenn wir vorläufige Proben anstellen könnten, so würden diese doch nicht unter allen Verhältnissen dasselbe Resultat geben. Hier werden die individuellen Eigentümlichkeiten der Zellen der Arten sich auch geltend machen können, und es ist höchst wahrscheinlich, dafs man, wenn man durch zahlreiche Generationen eine Art der oben erwähnten Behandlung aussetzt, auf dieselbe wird derart einwirken können, dafs sie allmählich besser befähigt wird, sich unter den vorhandenen schwierigen Ernährungsverhältnissen vorwärts zu kämpfen. Es sind dies weitere Bedenklichkeiten gegen die Anwendung der physiologischen Methoden in der genannten Beziehung.

Der einzige, unter allen Umständen sichere Weg, auf welchem wir eine Reinkultur eines Mikroorganismus erreichen können, gleichviel von welchen physiologischen und morphologischen Eigenschaften letzterer im Besitz sein möchte, ist, die Aussaat einer einzigen Zelle in ein steriles Nährsubstrat vorzunehmen.

Fünfter Versuch.

Dieser und der folgende Versuch wurden speziell angestellt, um das von Velten in seiner vorerwähnten Vorlesung beschriebene Verfahren zu prüfen, welches er, nach Pasteur's Anweisung, zur Reinigung der Brauereihefe anwendet. Die Flüssigkeit war in diesem Falle eine Lösung von 10% Rohrzucker in mit 4% Weinsäure versetztem Wasser. Es wurde mit aus jungen, kräftigen Zellen bestehenden Vegetationen, welche durch 24stündige Kultur in Würze bei 26° C. gezüchtet wurden, experimentiert, und gleiche Mengen von jeder Art wurden in den Kolben eingeführt.

In *A*: Sacch. cerevisiae I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III.

In *B*: Carlsberg Unterhefe Nr. 1, Carlsberg Unterhefe Nr. 2, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III.

In *C*: Carlsberg Unterhefe Nr. 1, Carlsberg Unterhefe Nr. 2, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

In *D*: Sacch. cerevisiae I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

Nachdem diese Kolben die genannten Hefenmischungen empfangen hatten, wurden sie bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestellt, und nach zweitägigem Stehen wurden sie gut geschüttelt, worauf Durchschnittsproben in neue Kolben mit ganz derselben Zuckerlösung übergeführt wurden. Es wurden auf die bei dem ersten Versuche beschriebene Weise fünf Kulturen vorgenommen, von denen ich jede zwei Tage in Ruhe stehen liefs. Die Kolben, welche die vierte und die fünfte Kultur enthielten, wurden geprüft, die vierte Kultur nach acht und die fünfte nach zehn Tagen, vom Beginn des Versuchs gerechnet. Dieses geschah in beiden Fällen dadurch, dafs die Zuckerlösung mit ihrem Hefeinhalt gut geschüttelt, und Durch-

schnittsproben dann in eine entsprechende Reihe Kolben mit Bierwürze übergeführt wurden. Die Kolben, aus welchen die Proben entnommen waren, wurden hernach eine kurze Zeit in Ruhe gestellt, bis der in ihnen noch vorhandene Rest von Hefe sich niedergeschlagen hatte, worauf, soweit möglich, die ganze Flüssigkeit abgegossen und statt derselben eine passende Portion Würze eingeführt wurde. In dieser Weise wurde nicht nur mit Durchschnittsproben gearbeitet, sondern in den beiden Reihen von Kolben wurde nun auch sozusagen all die in der entsprechenden Kultur in der Zuckerlösung vorhandene Hefe gesammelt, und die letzte Reihe der Würzekolben empfing fast nichts von der stark sauren Flüssigkeit. Letzteres mag hier hervorgehoben werden, wo es sich darum handelt, abgeschwächte Hefezellen zur Vermehrung zu bringen. Es wurde stets mit sterilen Flüssigkeiten gearbeitet und genau darüber gewacht, dafs keine Organismen von aufsen her sich in die Kolben hineindrängten.

Falls die beschriebene Behandlung in der Rohrzuckerlösung mit Weinsäure wirklich eine Reinigung herbeiführte, so müfsten diese Kolben mit Kulturen in Würze nun also die gereinigte Brauereihefe, von allen ursprünglich vorhandenen Krankheitskeimen befreit, enthalten. Demnach müfsten wir also erwarten, beziehentlich in den Kulturen von *A* eine reine Vegetation der Brauerei-Oberhefe, Sacch. cerevisiae I, in den Kulturen von *B* eine reine Vegetation der Carlsberg Unterhefe Nr. 1 und Nr. 2, in den Kulturen von *C*: der Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und Nr. 2 und in den Kulturen von *D:* des Sacch. cerevisiae 1. Das Resultat wurde indes ein ganz anderes!

Die genannten Kulturen wurden in einen Thermostaten bei 26° C. gestellt, aber nur die Kolben, welche die Hefe von *A* und *B* enthielten, welche der beschriebenen Behandlung in der Zuckerlösung in der Zeit von acht Tagen unterworfen gewesen war, boten Anzeichen von Entwickelung dar, alle übrigen Vegetationen mufsten als abgestorben angesehen werden; selbst nachdem sie mehrere Wochen gestanden hatten, war noch kein Lebenszeichen bemerkbar. Die Kolben mit den lebenden Vegetationen zeigten deutliche Untergärungsphänomene, und das Bier hatte den unangenehmen bittern Geschmack und üblen Geruch, welche durch die Krankheitshefeart Sacch. Pastorianus I verursacht werden. Schon hieraus war der Schlufs zu ziehen, dafs sie keine Reinkulturen der ursprünglich ausgesäeten Brauereihefearten enthalten konnten. Die Aufgabe war es nun, näher zu untersuchen, worin ihr Hefeinhalt bestand; zu diesem Zwecke wurde eine Verteilung und Untersuchung der Zellen nach den bei dem ersten Versuch beschriebenen Verfahrungsweisen vorgenommen. Es ergab sich das Resultat, dafs nur eine einzige Art, nämlich der Krankheit erzeugende Sacch. Pastorianus I,

vorhanden war; nur diese allein hatte die beschriebene Behandlung in der Zuckerlösung überlebt.

Sechster Versuch.

Während bei den vorhergehenden Versuchen gleiche Portionen der verschiedenen Hefearten ausgesäet wurden, waren bei diesem die Krankheitshefearten in der Mischung mit den Kulturhefen nur im Verhältnisse 1:5 vorhanden. Die in jedem Kolben vorhandene Brauereihefe war also gleich von Anfang an in absolutem Übergewicht. Der Versuch wurde mit folgenden fünf Kolben angestellt:

In *A:* Sacch. cerevisiae I, Sacch. Pastorianus I.
In *B:* Eine Brauerei-Unterhefe, Sacch. Pastorianus I.
In *C:* Carlsberg Unterhefe Nr. 2, Sacch. Pastorianus I.
In *D*: Sacch. cerevisiae I, Sacch. ellipsoideus II.
In *E:* Eine Brauerei-Unterhefe, Sacch. ellipsoideus II.

Die Zuckerlösung enthielt in diesem Falle nur 3,8 % Weinsäure. Das Verfahren war übrigens das nämliche wie beim fünften Versuche.

Es zeigte sich, dafs die Arten in dem Kolben *D,* nämlich Sacch. cerevisiae I und Sacch. ellipsoideus II, abgestorben waren, nachdem sie auf die angegebene Weise zehn Tage in der Zuckerlösung gezüchtet worden waren; nach einer solchen Behandlung in der Zeit von acht Tagen waren sie dagegen noch lebendig. In allen übrigen Kolben hielten wenigstens einige der Arten diese Behandlung sowohl nach Verlauf von acht wie nach zehn Tagen aus.

Nachdem eine Verteilung der Zellen vorgenommen und für jeden Kolben eine sehr grofse Anzahl (in einigen Fällen bis 80) besonderer Züchtungen dieser Zellen nach den oben beschriebenen Verfahrungsweisen ausgeführt worden war, wurden folgende Resultate erhalten:

A: Die ausgesäeten Arten waren alle beide am Leben; während aber die Zellen des Sacch. cerevisiae I am Anfang des Versuches in einer fünfmal so grofsen Anzahl als die Zellen des Sacch. Pastorianus I vorhanden waren, hatte das Verhältnis sich nun vollständig verändert. Die Krankheitshefeart war jetzt die vorherrschende, die Brauerei-Oberhefeart dagegen dermafsen zurückgedrängt, dafs ich diese nur noch mittels besonderer Kulturen in Bierwürze bei 37—38° C. auffinden konnte, einem Wärmegrade, der noch für Sacch. cerevisiae I günstig ist, während er höher ist, als das Temperatur-Maximum unter den angegebenen Verhältnissen für Sacch. Pastorianus I.

B: Es wurde nur Sacch. Pastorianus I gefunden; von der Brauerei-Unterhefe wurde keine Spur wahrgenommen.

C: Die Zellen des Sacch. Pastorianus I waren in ganz übermäfsiger Menge vorhanden; von Carlsberg Unterhefe Nr. 2 wurde nur eine zweifelhafte Spur gefunden.

D: Sacch. ellipsoideus II war in überschwenglicher Menge vorhanden; Sacch. cerevisiae I war auch in diesem Falle nur durch Züchten in Würze bei 37—38° C. wahrnehmbar.

E: Die beiden ausgesäeten Arten, die Brauerei-Unterhefe und Sacch. ellipsoideus II wurden gefunden, aber die Untersuchung zeigte, dafs letztere jetzt die Hälfte der Hefenmischung ausmachte, während sie, wie man sich erinnern wird, am Anfang des Versuchs nur ein Fünftel betragen hatte; die Krankheitshefe hatte sich also auch in diesem Falle auf Kosten der Brauereihefe vermehrt.

Als Hauptresultat dieses Versuches ergibt sich, dafs die beiden Krankheitshefen, Sacch. Pastorianus I und Sacch. ellipsoideus II, die Brauereihefen überwältigt haben. Die erstere der beiden genannten Krankheitshefearten gibt, wie schon oben berührt, dem Biere einen unangenehmen Geschmack und Geruch, letztere erregt in untergärigen Bieren die Krankheit, welche wir Hefetrübung nennen. Es hat also nichts geholfen, dafs die Brauereihefearten am Anfang des Versuchs im Übergewicht vorhanden waren.

Wie man sich erinnern wird, stellt Velten sich in seinen oben citierten Vorlesungen vollständig auf den von Pasteur in den „Études sur la bière" angegebenen Standpunkt. Für ihn handelt es sich nur darum allein, die Bakterien zu beseitigen. Auf meine Lehre von den Alkoholgärungspilzen nimmt er keine Rücksicht; wenn er die Brauereihefe von Bakterien befreit hat, so ist sie seiner Ansicht nach rein. Meine Untersuchungen haben indes mit Bestimmtheit gezeigt, dafs die genannten drei Saccharomyces-Arten, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoideus II, im untergärigen Biere Krankheiten hervorrufen (siehe Mitteilungen des Carlsberger Laboratoriums, Bd. II, Heft 2, 1883, Zeitschrift für das gesammte Brauwesen, München 1884, pag. 273 und namentlich die nachfolgende ausführliche Abhandlung über diesen Gegenstand). Die Richtigkeit dieses Ergebnisses ist durch Alfred Jörgensen, Grönlund, Will, Lasche, Kokosinski und andere bestätigt worden. Es wurde überdies in den letzten Jahren nachgewiesen, dafs es aufser den genannten auch noch mehrere andere Saccharomyceten gibt, welche Krankheiten im Biere hervorrufen können. Alles zeigt sogar darauf hin, dafs es eine grofse Anzahl solcher Arten gibt. Die Frage, ob durch das beschriebene Züchten der Brauereihefe in der Zuckerlösung eine Reinigung erreicht wird oder nicht, mufs also zufolge des Obigen nicht allein in Bezug auf die Bakterien gestellt werden, sondern auch ganz besonders mit Rücksicht auf die erwähnten Krankheits-

Hefenarten. Von diesem Gesichtspunkte aus gesehen, gehen nicht nur der fünfte und sechste Versuch der Behauptung Velten's zuwider, sondern dasselbe gilt in Wirklichkeit auch von den ersten vier Versuchen. Das von Velten und Duclaux empfohlene Pasteur'sche Verfahren zur Reinigung der Brauereihefe bewirkt also, wenn von Krankheitshefenarten die Rede ist, gar keine Reinigung, sondern verursacht im Gegenteil, dafs die Krankheitserreger sich noch stärker verbreiten. Dieses gilt sowohl bei den Versuchen mit Ober- als mit Unterhefe. Pasteur's Verfahren ist folglich in den Brauereien ganz und gar unbrauchbar. Wo dasselbe etwa eingeführt wird, wird es grofsen Geldverlust und grofse Schwierigkeiten verursachen.

Der sechste Versuch zeigte gleichfalls, dafs die Methode auch nicht in der angewandten Form Sicherheit dafür gibt, eine Reinkultur zu erreichen.

Die oben mitgeteilten Untersuchungen veröffentlichte ich in den Mitteilungen des Carlsberger Laboratoriums i. J. 1891.

Man sollte nun glauben, dafs meine Gegner solchen Thatsachen gegenüber sich ruhig verhalten hätten, zumal wenn sie nicht im stande wären, in meinen Experimenten oder in den Schlüssen, welche ich daraus ziehe, Fehler nachzuweisen. Dieses ist indes nicht geschehen. Velten erkennt wohl stillschweigend, dafs meine Versuche richtig sind, und kann folglich auch nicht die unter den gegebenen Versuchsbedingungen erhaltenen Resultate angreifen; aber dann kommt er (La Gazette du Brasseur 1891) mit neuen Einwänden, dafs die Krankheitshefenarten in meinen Hefemischungen in zu grofser Menge im Verhältnisse zu den Brauereihefenarten vorhanden gewesen seien, und ferner dafs die Versuche bei niedrigeren Temperaturen als 25 °C., die ich zum Teil anwendete, hätten angestellt werden sollen. Wenn ich dieses befolgt hätte, würde ich, behauptet er, zu einem ganz anderen Resultat gelangt sein, und er bezeichnet das Verfahren Pasteur's für einfacher und rationeller als meine Methode, deren Ausgangspunkt bekanntlich die einzelne Zelle ist. In der detaillierten Beschreibung, welche Velten im Jahre 1878 von Pasteur's Methode gab, wird gar nichts davon gesprochen, dafs die Züchtung bei einer niedrigeren Temperatur vor sich gehen soll; ebenso wenig findet sich eine derartige Angabe in den Werken von Pasteur und Duclaux. Es sind leider wieder nur Redensarten, die Velten vorbringt, Beweise oder Versuche teilt er nicht mit. Mein Kollege Direktor Jörgensen hat in „La Gazette du Brasseur“ (1891 Nr. 215) und in der „Allgemeinen Brauer- und Hopfenzeitung“, Nürnberg (1891 Nr. 142) eine scharfe Zurückweisung der Behauptungen

Veltens veröffentlicht. Jörgensen teilt hier folgende Untersuchungen aus seiner eigenen Praxis mit:

„Als vor 11 Jahren die Brauerei Tuborg hier in Kopenhagen an einer stark ausgeprägten Hefetrübung im Biere, von wilden Hefearten herrührend, laborierte, wendete ich die Pasteur'sche Methode zur Reinigung der Hefe im grofsen an, indem die Hefe in dem Gärkeller selbst in Bottichen von 5 bis 6 hl Inhalt bei Untergärungstemperatur mit weinsauren Flüssigkeiten behandelt wurde. Es wurde hierdurch keine Spur von Verbesserung erzielt, die Krankheit trat immer unverändert auf und verschwand erst, als eine wirkliche Reinhefe nach Hansens Methode anstatt der mittels Weinsäure gereinigten Hefe zur Anwendung gebracht wurde.

Ferner kann angeführt werden, dafs seit einem halben Jahre in meinem Laboratorium eine grofse Zahl Versuche vorgenommen wurde mit Mischungen von Kulturhefen und den verschiedenen wilden Hefearten, darunter auch Krankheitshefen, in sehr verschiedenen Verhältnissen mit einander gemischt und danach mit ungefähr ½ % Weinsäure versetzter Würze gezüchtet. Es hat sich dabei beständig ergeben, dafs die wilden Hefearten sich nach und nach auf Kosten der Kulturhefe entwickelten, und dafs letztere ganz zurückgedrängt wurde. Dieses zeigt also, dafs der Zusatz von Weinsäure zu der Würze auch keine Reinigung bewirkt, sondern vielmehr die Entwickelung der Krankheitshefen begünstigt."

Um wo möglich meine Gegner zum Schweigen zu bringen und um (wie oben berührt) die ganze Frage bis auf den Grund zu untersuchen, führte ich selbst nachfolgende Versuche aus, in denen, wie die letzten Einwände Veltens es fordern, bei niedrigen Temperaturen und mit einer Hefemischung, in welcher die Krankheitshefenarten nur in äufserst geringer Menge vorhanden waren, gearbeitet wurde. Herr Assistent Nielsen ist mir dabei in umfassender Weise behilflich gewesen.

Siebenter und achter Versuch.

Zu diesen neuen Versuchen nahm ich allgemeine Stellhefe, wie selbe in einer Untergärungsbrauerei, deren Gärungen in vollständiger Ordnung waren, und deren Bier sich in jeder Beziehung vorteilhaft auszeichnete, angewendet wurde. Die Brauerei wurde von einem Reinzucht-Apparate, in welchem eine absolute Reinkultur einer derjenigen Bier-Unterhefenarten, die sehr schwierig Sporen bilden, sich befand, mit Hefe versehen. Nach 6—7 Tagen hatten die Hefezellen in den gewöhnlichen Gypsblockkulturen bei 25° C. entweder noch gar keine oder äufserst wenige Sporen entwickelt. Diese Sporen hatten überdies das für Kulturhefe-Sporen charakteristische Aussehen und konnten so von

Sporen wilder Hefenzellen mikroskopisch unterschieden werden. Die von mir zur Analyse der Brauereihefe angegebene Methode konnte folglich mit Sicherheit angewendet werden. Bei den Proben, welche ich auf diese Weise anstellte, war es mir nicht möglich, Spuren von wilder Hefe zu entdecken, und die mikroskopische Untersuchung zeigte ebenfalls darauf hin, dafs die ganze Masse der Hefe aus der Brauerei-Unterhefenart allein bestand. Holm und Poulsen haben die Tragweite meiner Methode einer eingehenden Prüfung unterworfen, und gefunden, dafs man mittels derselben imstande ist, sogar eine so geringe Beimischung wilder Hefe wie ½ % in der Brauerei-Hefe nachzuweisen (Mitteilungen des Carlsberger Laboratoriums, Bd. II, Heft 4 u. 5). Die Untersuchung der vorliegenden Stellhefe ergab also, dafs entweder gar keine wilde Hefe darin war oder jedenfalls nur äufserst geringe Spuren davon. Indem ich diese Hefe zum Ausgangspunkt für meine Analyse nahm, mufste selbstverständlich auch der Einwand, welchen Velten in seinem Angriff vorgebracht hatte, wegfallen, nämlich dafs meine Hefemischung von einer abnormen Zusammensetzung sei, welche in der Praxis nie zur Anwendung komme.

Die Züchtung in Lösung von Rohrzucker und Weinsäure wurde, wie in dem voran beschriebenen fünften und sechsten Versuch, vorgenommen. Die Leser, welche sich für die Einzelheiten der Versuchsanordnung interessieren, erlaube ich mir, darauf zu verweisen. Ich stellte mit der beschriebenen Brauereihefe zwei Reihen von Versuchen an, eine bei gewöhnlicher Zimmerwärme (am Tage in der Regel 17° C., nachts bisweilen 10° C.) und eine bei einem Temperaturgrade, der die ganze Zeit ca. 9° C. war.

In der Versuchsreihe bei gewöhnlicher Zimmertemperatur war die Hefe nicht nur in der vierten und fünften Kultur in der Zuckerlösung, sondern schon in der dritten Kultur so verändert in ihrer Zusammensetzung geworden, dafs sie, nachdem sie in Würze übergeführt worden war, eine Vegetation bildete, in welcher die wilde Hefe im Übergewicht vorhanden war. Die gewöhnlichen Gypsblockkulturen bei 25° C., welche damit angestellt wurden, zeigten nun schon nach 3—4 Tagen eine sehr reiche Entwickelung wilder Hefezellen mit Sporen von einem vollständig typischen Aussehen, und bei der mikroskopischen Untersuchung der neugebildeten Hefe zeigte es sich ebenfalls, dafs die meisten Zellen dasselbe Aussehen hatten wie das der Zellen der Ellipsoïdeus- und Pastorianus-Gruppen. In der zweiten Kultur in der Zuckerlösung hatte die Hefe dagegen noch nicht eine solche Veränderung erfahren; hier war die Brauerei-Unterhefe noch in absolutem Übergewicht.

Die zweite meiner neuen Versuchsreihen wurde, wie oben mitgeteilt, bei ca. 9° C. ausgeführt. Als die dritte Kultur in der Zuckerlösung zwei Tage gestanden hatte, wurde eine Durchschnittsprobe daraus in die vierte übergeführt. Darauf wurde die Hefe von der dritten Kultur

in Würze, ebenfalls bei 9° C. gezüchtet. Nachdem die vierte und fünfte Kultur in Zuckerlösung ihre Zeit gestanden hatte, wurde auch die Hefe von diesen in Würze übergeführt und auf dieselbe Weise wie die dritte Kultur gezüchtet. Infolge der niedrigen Temperatur, bei der die Züchtung vor sich ging, wurde erst nach ca. 12 Tagen eine erkennbare Entwickelung von Hefe in der letztgenannten Würzekultur gefunden, und in den beiden anderen erst nach 15 Tagen. Wenn Pasteurs Methode richtig wäre, müfste also die Hefevegetation in diesen drei Kolben aus der reinen Brauereihefe bestehen. Das Resultat fiel indes auch in diesem Falle ganz gegenteilig aus. Die Brauereihefe war nämlich, gleichwie in allen meinen anderen Versuchen, von den wilden Hefearten vollständig zurückgedrängt worden, und dennoch waren diese, wie oben bemerkt, am Anfang des Versuches nur in äufserst geringer Einmischung vorhanden. Die neuen Einwände Veltens sind hierdurch also auch vollständig widerlegt worden.

Daraus, dafs Pasteur und seine Mitarbeiter ein Verfahren, welches gerade Krankheiten im Biere hervorruft, empfehlen konnten, geht deutlich hervor, dafs sie kein Verständnis hatten von der Rolle, welche gewisse Hefenarten als Krankheitserreger spielen, und dafs der Kernpunkt des Problems von der Reinzucht der Hefe überhaupt ihrer Aufmerksamkeit entgangen war. Ich habe daher diese Untersuchungen in neuen Bahnen einführen müssen. Meine Gegner haben mir dies nicht vergeben können. Recht besehen, spricht aus den immer wieder gegen mich gerichteten Angriffen, seien sie klein oder grofs, ein Zorn darüber, dafs nicht das grofse Frankreich, sondern das kleine Dänemark es war, welches die neue Reform einführte.

3.

In biologischer Beziehung haben die vorerwähnten Versuche uns gelehrt, dafs die Brauerei-Unterhefearten, mit welchen experimentiert wurde, es nicht vermögen, die Behandlung in der Zuckerlösung mit Weinsäure auszuhalten; ein wenig mehr Widerstandsvermögen schien die Brauerei-Oberhefeart Sacch. cerevisiae I zu besitzen; aber auch diese wurde von den wilden Hefearten überwältigt. Das gröfste Widerstandsvermögen zeigten die Krankheitshefen Sacch. Pastorianus I und Sacch. ellipsoideus II. Unter anderen Versuchsbedingungen werden die Resultate sich vielleicht etwas verschieden stellen.

Was hier und früher gegen die Anwendung von Weinsäure zur Darstellung reiner Hefe vorgeführt wurde, gilt im Prinzipe auch von anderen derartigen Mitteln und Verfahrungsweisen. Es wäre somit ein Irrtum, zu glauben, dafs man, wenn man statt Weinsäure ein anderes antiseptisches Mittel, z. B. Karbolsäure, Salicylsäure,

Flufssäure u. s. w., benutzte, dadurch befähigt würde, nicht nur alle vorhandenen Bakterien, sondern gleichzeitig auch noch alle wilden Hefearten zu töten, so dafs man nur die gewünschte Kultur-Hefeart oder -Rasse allein, von allen Konkurrenten befreit, zurückbehielte. Ein solches Universalmittel gibt es nicht. Auch mufs erinnert werden, dafs, selbst wenn man die Bakterien und die wilden Hefearten glücklich losgeworden ist, man doch noch lange nicht die gewünschte Reinkultur erreicht hat. Von guten Bierhefearten gibt es nämlich eine grofse Anzahl, sowohl Ober- als Unterhefearten, und viele unter ihnen reagieren, wie verschieden sie auch sonst sein mögen, sehr häufig auf dieselbe Weise gegenüber der antiseptischen Behandlung. Komplizierter werden die Verhältnisse ferner dadurch, dafs zu ein und derselben Spezies gehörige Zellen umgekehrt verschieden reagieren können gegenüber ein und derselben Behandlung, nämlich je nach den wechselnden Zuständen, in denen sie sich befinden, je nachdem sie jung oder alt, mehr oder weniger wohlgenährt sind u. s. w. Dafs es auch durchaus nicht gleichgiltig ist, ob man in der Anstellhefe die gewünschte Art für sich allein oder in Zusammensetzung mit anderen Bierhefearten hat, geht u. a. auch daraus hervor, dafs Kulturhefearten, welche, wenn sie allein da sind, jede für sich gutes Bier geben, unter gewissen Umständen aber, wenn sie mit einander gemischt werden, Krankheit hervorrufen können (siehe meine nachstehende Abhandlung). Die Sicherheit kann, kurz gesagt, auf den oben erwähnten Wegen nicht erreicht werden; dies erfordert, dafs man von dem Individuum, von der einzelnen Zelle den Ausgangspunkt nehme und hiervon die absolute Reinkultur herstelle.

Es ist eine bekannte Sache, dafs ein Zusatz von Weinsäure die Entwickelung der meisten in Stellhefe und Bierwürze auftretenden Bakterienarten hindert; aus dem vorhergehenden haben wir aber gesehen, wie gefährlich dieses Mittel sein kann. Wo man in Brauereien dasselbe anzuwenden wünscht, ist es daher rätlich, nur schwache Zusätze zu gebrauchen und es überhaupt mit grofser Behutsamkeit anzuwenden. Gute Brauereien arbeiten auch heutzutage, ohne zu Antiseptica ihre Zuflucht zu nehmen. Eine streng durchgeführte Reinlichkeit und Ordnung in Verbindung mit einer guten Reinzuchthefe in den Garbottichen ist der Weg dazu.

Wenn die Frage vorliegt, ob in einer bestimmten Probe von Stellhefe Krankheitshefen sich befinden oder nicht, wird die von mir vor einigen Jahren angebene Methode angewendet, indem Sporenkulturen bei 25 und 15° C. angestellt werden. Die Krankheitshefen bilden nämlich unter diesen Umständen ihre Sporen früher als die Brauereihefen, ferner ist auch hinsichtlich des Aussehens der Sporen ein Unterschied. Wie

oben erwähnt, kann man vermittelst dieser Methode eine so geringe Einmischung von Krankheitshefe in der Brauereihefe wie von $^1/_2$ % nachweisen. Es ist jedoch mit nicht geringer Schwierigkeit verbunden und erfordert ziemlich viel Übung, so geringe Einmischungen zu entdecken. Aus dem obigen haben wir indes ersehen, dafs ein Züchten in einer Lösung von 10 % Saccharose, zu der ungefähr 4 % Weinsäure gesetzt wurde, ein vorzügliches Mittel ist, zu erfahren, ob wilde Hefenarten in einer Stellhefe sich befinden oder nicht. In allen untersuchten Fällen wurde nämlich, wie wir gehört haben, die Brauereihefe von wilden Hefenarten unterdrückt, wenn von Anfang an solche vorhanden waren, und dieses geschah sowohl mit Bier-Oberhefe wie mit Bier-Unterhefe. Die in dieser Richtung angestellten Untersuchungen sind so zahlreich, dafs die von mir gefundene Regel gewifs eine weitreichende Giltigkeit hat; dafs man durch fortgesetztes Suchen Ausnahmen davon finden können wird, ist jedoch höchst wahrscheinlich. Eine jede Methode hat bekanntlich ihre Grenzen, und dieses gilt in besonderem Grade von den biologischen. — Für die praktische Brauerei-Analyse ist die Probe indes in ihrer jetzigen Gestalt zu fein; denn, wie wir gesehen haben, zeigten meine Untersuchungen ja, dafs die gute Brauereihefe bei dieser Probe einen starken Ausschlag für wilde Hefe gab. Bei Anwendung derselben würde man also in die Lage kommen können, eine Stellhefe zu verwerfen, welche doch, praktisch genommen, in Wirklichkeit eine gute war. Ob man vermittelst Änderungen in der Methode es dazu bringen kann, dafs dieselbe zu dem genannten Zwecke angewendet werden kann, habe ich nicht untersucht. Die Frage verdient indes eine genauere Untersuchung, und ich empfehle sie deshalb der Aufmerksamkeit der Zymotechniker.

Unter den Brauereien, welche mein Hefereinzucht-System eingeführt haben, befinden sich nun viele, welche dazu einen geschlossenen Vermehrungsapparat anwenden, in welchem die Hefeerzeugung in absolut reinem Zustande vor sich geht. Die Forderung ergibt sich natürlich von selbst, dafs in dem Gärungscylinder nicht irgendwelche Verunreinigung sein darf, also auch keine Spur von wilder Hefe. Wenn mit Genauigkeit mit dem Apparat gearbeitet wird, so wird die Hefe darin auf unbegrenzte Zeit rein bleiben. Ich kenne Brauereien, in welchen der Apparat zwei bis drei Jahre in unausgesetzter Thätigkeit war, ohne dafs es notwendig war, eine neue Reinkultur einzuführen. Wendet man aber den Apparat nicht auf die richtige Weise an, so wird eine Infektion sich leicht einschleichen können. Ich brauche jedoch nicht länger hierbei zu verweilen, da ich in meinen „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie“ 1. Heft, ausführliche Aufschlüsse sowohl über den Bau des Apparates als über dessen Anwendung in den Brauereien gegeben habe.

Aus dem obigen folgt, dafs es richtig ist, in Zwischenräumen den Zustand der Hefe im Apparat einer scharfen Kontrolle zu unterziehen. Hierzu gehört, dafs man mit Vorsicht Proben der gärenden Würze des Gärungscylinders entnimmt, am besten gegen Ende der Hauptgärung; denn in diesem Stadium wird man leichter sowohl Bakterien als wilde Hefenarten finden können, wenn solche da sind. Von hier aus werden wiederum kleine Portionen in Kolben mit Hefenextrakt übergeführt, welche dann bei einer höheren Temperatur, z. B. 25° C., gestellt werden, um zu sehen, ob eine Bakterienvegetation sich darin entwickelt oder nicht. Den Rest läfst man stehen, bis die Hefe sich zu Boden gesetzt hat, worauf das Bier abgegossen wird und Durchschnittsproben der Hefe in die weinsaure Zuckerlösung übergeführt werden. Die Behandlung kann dann geschehen, wie ich dieselbe in dem fünften und sechsten Versuche der vorliegenden Abhandlung beschrieben habe, bei gewöhnlicher Zimmerwärme oder 25° C.; drei oder höchstens vier Züchtungen in der Zuckerlösung werden genügen. Die so behandelte Hefe wird dann einige Male in Bierwürze gezüchtet, wonach sie unter dem Mikroskope und mittels der von mir angegebenen Sporenanalyse untersucht wird. Wenn so schwache Spuren wilder Hefe vorhanden sind, dafs man dieselben mit den bisher gekannten Untersuchungsmethoden nicht zu entdecken vermag, wird die Behandlung mit Weinsäure sie doch zu einer so starken Entwicklung bringen, dafs sie sichtbar werden; auch von einigen der unter dem Namen Mycoderma cerevisiae beschriebenen Arten gilt dies.

Für diese Analyse empfehle ich also schon jetzt die beschriebene Behandlung mittels Weinsäure dann und wann in Anwendung zu bringen.

4.

Jetzt wie früher möchte ich am liebsten jede Kritik der Arbeiten Pasteurs durchaus vermeiden, aber meine Gegner haben mir dies nicht gestattet. Wenn wir genauer untersuchen, was Pasteur eigentlich gemeint hat, wenn er von der Darstellung einer reinen Hefe zu Brauereizwecken sprach, so finden wir in seinem Werke zwar keine so deutliche Aufklärung darüber, als wir wünschen möchten, aber Vieles deutet doch darauf hin, dafs er die Begrenzung seiner Methoden selbst erkannt hat (Études sur la bière, pag. 227), und dafs sein Ziel nur das war, die Brauereihefe von Bakterien zu befreien. Wenn er in dem obengenannten Werke pag. 4—7 eine Übersicht der Krankheitsformen gibt, welche seiner Ansicht nach das Bier angreifen können, ist daher auch nur von Bakterien und gar nicht von Alkoholgärungspilzen die Rede. (Dieselbe Auffassung hat, wie schon oben erwähnt, auch Velten, und sie wurde ebenfalls von Duclaux in seinen beiden Werken, nämlich Chimie bio-

logique, 1883, pag. 618, und Le microbe et la maladie, 1886, pag. 91 bis 95, ausgesprochen). Nachdem Pasteur die verschiedenen Verfahrungsweisen, welche er im Jahre 1876 zur Reinigung der Hefe anwendete, erwähnt hat, sagt er pag. 227: „Das beste Mittel zur Entscheidung, ob eine Hefe rein sei oder nicht, besteht darin, dafs man sie zur Herstellung von etwas Bier in einem zweihalsigen Kolben benutzt, und wenn die Gärung zu Ende ist, stellt man diesen Kolben in einen Thermostaten bei 20°—25° C. Wenn das Bier nach einigen Wochen unter diesen Umständen sich nicht trübt und auch nicht mit einer Haut bedeckt wird, wenn der Hefenbodensatz bei einer mikroskopischen Untersuchung rein zu sein scheint, und wenn endlich der Geschmack des Bieres nicht auf irgend eine andere Weise beeinträchtigt wurde, als dadurch, dafs er schal geworden ist, so hat man allen Grund, sich darauf zu verlassen, dafs die Hefe rein gewesen ist.“ Diese Probe ist eine gute Illustration von dem Standpunkte, auf welchem die Forschung sich damals befand.

Insofern man dadurch nur darüber Aufschlufs wünscht, ob Bakterien und hautbildende Mycoderma-Arten da sind oder nicht, ist dieselbe sehr brauchbar. Ganz unbrauchbar ist sie dagegen, wenn es sich zugleich darum handelt, ob die vorhandenen Hefezellen einer oder mehreren Arten angehören. Die Bodensatzhefe kann sogar aus einer Mischung von einer guten Bierhefe nebst einigen der schlimmsten Krankheitshefearten bestehen, ohne dafs man unter den beschriebenen Umständen imstande sein wird, dieselben zu entdecken! Die mikroskopische Untersuchung genügt in diesem Falle durchaus nicht, und dasselbe gilt von den anderen angegebenen Merkmalen. Dieses geht schon aus einer theoretischen Betrachtung hervor, und greifbare Beweise erhält man, wenn man direkte Versuche anstellt.

Die Pasteursche Probe kann also nur dann gelten, wenn es sich ausschliefslich um Bakterien und Mycoderma-Arten handelt[1]).

Am deutlichsten spricht Pasteur sich im Bulletin de la Société d'encouragement pour l'industrie nationale, Janvier 1887, pag. 45, über diese Frage aus; er sagt hier: „Hansen ist der Erste, welcher eingesehen hat, dafs die Brauereihefe nicht blofs hinsichtlich der Bakterien, der eigentlichen Krankheitsfermente, rein sein mufs, sondern dafs sie auch von den wilden Hefenarten befreit sein mufs“.

[1]) Einige zymotechnische Zeitschriften haben in der letzten Zeit die Brauer auf Pasteurs oben beschriebene Gärungsprobe in dem zweihalsigen Kolben verwiesen, als ein Mittel, zu erfahren, wie das Bier im Betrieb sich stellen werde. Es ist dies indefs ein grofser Irrtum! Das Bier, welches im Kolben hervorkommt, ist ganz anderer Art als dasjenige, welches in der Brauerei erzeugt wird, selbst wenn die Hefe und die Würze gleich sind. Die Gärungen und der Kampf zwischen den gegenwärtigen Mikroorganismen sind in den beiden Fällen unter so verschiedenen Verhältnissen vor sich gegangen, dafs ein Vergleich gar nicht stattfinden kann.

Pasteurs Arbeiten und die meinigen bezeichnen zwei ganz verschiedene Standpunkte.

Für Pasteur sind es die Bakterien, welche die Krankheiten des Bieres erregen, und seine Aufgabe wird es demgemäfs, die Hefe von diesen kleinen Wesen zu befreien; dieses erzielt er z. B. durch das oben beschriebene Verfahren. Seine Aufgabe ist es, die Brauereihefe zu reinigen (purification des levûres), nicht aber eine wirkliche Reinkultur daraus darzustellen.

Für mich spielen dagegen die Alkoholgärungspilze die Hauptrolle. Da ich im Jahre 1883 gezeigt hatte, dafs einige der allgemeinsten und gefährlichsten Krankheiten des untergärigen Bieres nicht durch Bakterien, sondern durch gewisse Saccharomycesarten verursacht werden, so folgte schon hieraus, dafs eine Reinigung der Hefe, wie die von Pasteur angegebene, nicht zum Ziel führen konnte, sondern dafs eine wirkliche Reinkultur erforderlich war. Und da ich durch ein eingehendes Studium der Saccharomyceten zu der Einsicht gelangte, dafs die Ansichten meiner Vorgänger über den Begriff der Spezies auf diesem Gebiete unrichtig waren, indem z. B. unter dem systematischen Namen Sacch. cerevisiae sich eine ganze Reihe in ihrer Wirkung sehr verschiedener Ober- und Unterhefearten und -Rassen verbirgt, so folgte ferner hieraus, dafs es nicht genügte, eine Reinkultur herzustellen, sondern dafs man, um den bei der Fabrikation der verschiedenen Bier- und Wein-Sorten, sowie von Spiritus und Preſshefe, je nach der verschiedenen Beschaffenheit des Produktes gestellten Anforderungen gerecht zu werden, eine planmäfsige Auswahl der geeignetesten Art oder Rasse vornehmen mufs. So kam ich dazu, in der Gärungsindustrie dieselben Prinzipien einzuführen, welche im Gartenbau und in der Landwirtschaft schon längst bei der Kultur der höheren Pflanzen in Anwendung gebracht wurden.

Indem ich also von anderen Gesichtspunkten und anderen Methoden als mein berühmter Vorgänger ausging, mufsten auch die Resultate andere werden. Oftmals habe ich in meinen Schriften die grofse Bedeutung hervorgehoben, welche die Études sur la bière für meine Arbeiten gehabt, und ich wiederhole dieses hier wieder mit dankbarer Anerkennung. Dagegen mufs ich gegen die Versuche, welche französischerseits gemacht worden sind, der Entwickelung Einhalt zu thun und Alles auf den Standpunkt von 1876 zurückzuführen, protestieren; denn dieses widerstreitet dem Geist des Fortschrittes. Falls der berühmte Lehrer meiner Gegner seine Studien in diesem Gebiete fortgesetzt hätte, würde er selbst dieselben viel weiter gebracht haben.

Juli 1892.

III.

Untersuchungen über Krankheiten im Biere, durch Alkoholgärungspilze hervorgerufen.

I. Einleitung.

Meine erste Abhandlung über den obengenannten Gegenstand wurde in den Mitteilungen des Carlsberger Laboratoriums, Bd. II, Heft 2, 1883, veröffentlicht. Die später von mir eingeführte Teilung meiner Untersuchungen über die Gärungsorganismen in zwei Reihen hatte ich damals noch nicht vorgenommen; deshalb befindet sich diese Abhandlung unter meinen „Untersuchungen über die Physiologie nnd Morphologie der Alkoholgärungspilze", obschon sie ihrem Inhalt nach vielmehr der neuen Reihe angehört, welche ich im Jahre 1888 unter dem Namen „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie" herauszugeben begann. Im Jahre 1884 veröffentlichte ich in der „Zeitschrift für das ges. Brauwesen" eine kleine Mitteilung über neue Studien in der genannten Richtung. Diese Arbeiten enthalten jedoch lediglich die Hauptresultate meiner vor acht Jahren ausgeführten Experimente, und ich versprach darin, später eine ausführlichere Darstellung davon geben zu wollen und dann zugleich die verschiedenen Seiten der Frage zu behandeln. Auch habe ich seitdem mit kürzeren oder längeren Unterbrechungen diese Untersuchungen fortgesetzt und hierzu mehr als fünfzig Versuchsreihen angestellt. Für den Augenblick wenigstens glaube ich damit zu Ende gekommen zu sein, und indem ich nun die vorliegende Arbeit herausgebe, war ich bestrebt, die in den beiden oben genannten vorläufigen Mitteilungen gegebenen Versprechen zu erfüllen.

Diejenigen von meinen Untersuchungen, welche sich direkt auf die Gärungsindustrie beziehen, gruppieren sich um drei Hauptfragen: „Die Frage betreffs der Krankheiten des Bieres, die Frage betreffs der Reinzüchtung der Hefe und die Frage betreffs der Anwendung plangemäfs ausgewählter Hefenarten oder Rassen".

Es war die bei der Behandlung der ersten dieser Fragen erhaltene Lösung, welche mich veranlafste, in diese praktischen Studien auch die beiden anderen Fragen aufzunehmen. Falls es sich nämlich gezeigt hätte, dafs die Alkoholgärungspilze keine Krankheiten hervorrufen, so würde es keinen zwingenden Grund gegeben haben, wirkliche Reinkulturen in der Industrie einzuführen, folglich auch nicht, die Auswahl einer einzigen bestimmten Art oder Rafse vorzunehmen.

Die Frage betreffs der Krankheiten im Biere und anderen gärenden Flüssigkeiten hat also eine grofse Bedeutung. Die Lösung ist auch nicht

auf einmal gekommen; es arbeiteten viele Forscher seit langer Zeit daran. Die Untersuchungen auf diesem Gebiete stehen in engem Zusammenhange mit den Forschungen über die Selbsterzeugung, deren Erfolg bekanntermafsen der war, dafs eine neue experimentale Wissenschaft entstand, nämlich die Wissenschaft von den Mikroorganismen. Innerhalb dieser nimmt die Lehre von den Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten einen nicht unbedeutenden Platz ein. Es mufs daher eine Darstellung der Art und Weise, wie diese Lehre sich allmählich entwickelt hat, sowohl für den Biologen als für den praktischen Zymotechniker Interesse haben. Dieses gilt jedoch natürlich nur, insofern eine solche Darstellung auf einem gründlichen Studium der Quellen basiert und uns die wechselnden Standpunkte in anschaulicher Weise vor die Augen führt, und zwar nicht losgerissen, sondern in ihrem wechselseitigen Zusammenhange. In dem folgenden Kapitel habe ich einen Versuch in dieser Richtung gemacht. Es ist das erste Mal, dafs die Geschichte dieser Frage geschrieben wird.

2. Wie die Lehre von Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten sich nach und nach entwickelt hat.

Es sei zunächst daran erinnert, dafs wir, wenn wir an dieser Stelle von Krankheiten reden, darunter die unliebsamen Veränderungen verstehen, welche gärende Flüssigkeiten, namentlich Bier und Wein, infolge des Eingreifens von Mikroorganismen erleiden können. In engem Zusammenhange mit den Untersuchungen über Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten steht, wie oben berührt, die grofse Frage betreffs der Selbsterzeugung (generatio aequivoca). Unter Selbsterzeugung oder Urzeugung verstehen wir den Vorgang, dafs lebendige Wesen sich aus der toten Natur, insbesondere aus formloser organischer Masse, ohne Eier, Samen oder Keime, entwickeln.

Es gab zu allen Zeiten Naturforscher, welche dieser Auffassung huldigten. In den Jahren 1745—1756 wurde sie durch die Schriften, welche Needham herausgab, wieder ins Leben gerufen. Einer seiner Versuche bestand darin, dafs er Fleischwasserextrakt in verschlossenen Kolben einem starken Erhitzen aussetzte. Da sich nun gleichwohl Organismen darin entwickelten, meinte er, diese müfsten durch eine Selbsterzeugung hervorgebracht sein. Buffon und eine grofse Anzahl anderer Gelehrten schliefsen sich seiner Lehre an.

Es traten jedoch auch Gegner derselben auf; der bedeutendste unter diesen war Spallanzani. Er begann im Jahre 1765, Berichte über eine Reihe von Versuchen herauszugeben, die gegen die Auffassung Needhams gingen. Die Kolben, mit denen er seine Versuche anstellte, verschlofs er hermetisch und stellte sie dann in ein Gefäfs mit kochendem Wasser, wo sie ungefähr eine Stunde lang der hohen Temperatur

desselben ausgesetzt wurden. Nach dieser Behandlung traten keine Mikroorganismen in den Kolben auf, auch nicht nachdem sie abgekühlt worden waren; sobald er aber Luft in dieselben einströmen liefs, fand er solche. Spallanzani zog aus seinen Versuchen den Schlufs, dafs eine Selbsterzeugung nicht stattfindet, und dafs die Keime, oder wie er dieselben nannte, die Eier für die Entwickelung der Mikroorganismen in der Luft sich befinden; wenn diese zu den Absuden, mit denen er und Needham experimentierten, Zutritt bekommen, entwickeln sie sich weiter.

Es würde uns zu weit von unserer Hauptaufgabe wegführen, wenn wir hier die Geschichte dieser merkwürdigen Lehre behandeln wollten; wir wollen deshalb lediglich bei den Punkten in derselben verweilen, welche für die Untersuchungen über Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten eine besondere Bedeutung haben. Demgemäfs wird auch nur der Teil der Literatur, welcher auf diese Frage direkt Bezug hat, zitiert.

Bereits im Jahre 1782 hatte der berühmte schwedische Chemiker Scheele eine praktische Anwendung von Spallanzanis Experimenten gemacht. Er veröffentlichte nämlich ein Verfahren zum Konservieren des Essigs[1]). Dieser wird nach demselben in Flaschen abgefüllt, welche gut verschlossen in ein Gefäfs mit Wasser gestellt werden. Das Wasser wird sodann erwärmt, und nachdem es eine Weile gekocht hat, nimmt man die Flaschen heraus. Der auf diese Weise behandelte Essig kann, wie Scheele sagt, sich Jahr und Tag erhalten, ohne sich zu trüben noch zu verderben. Es ist dieselbe Methode, welche noch heute Anwendung findet.

Eine Andeutung des Verhaltens der Mikroorganismen den Krankheiten gärender Flüssigkeiten gegenüber, finden wir zum ersten Mal in der Ausgabe des Werkes Chaptals: „L'art de faire le vin", welche 1807 erschien[2]).

„Es gibt ein Phänomen, welches nicht nur die Aufmerksamkeit der zahlreichen Autoren, welche sich mit den Krankheiten des Weines beschäftigten, auf sich gezogen, sondern auch dieselben in Verlegenheit gebracht hat. Ich denke hier an die Häute (les fleurs du vin), welche sich in den Fässern und besonders in den Flaschen auf der Oberfläche des abgezapften Weines entwickeln. Diese Hautentwickelung geht immer dem sauren Degenerieren des Weines voraus und verkündet, dafs dasselbe

[1]) Carl Wilh. Scheele, Anmärkningar om sättet att conservera Ättika. (Kongl. Vetenskaps Academiens nya Handlingar. Tom. III. Stockholm, 1782, p. 120). Französisch erschien diese Arbeit, laut der Angabe Pasteurs, in Scheeles „Mémoires de Chimie, Dijon, 1785". Kurz nach Scheeles Tod wurden seine Werke auch in anderen Sprachen herausgegeben.

[2]) Meine Quelle ist in diesem Falle Pasteurs: „Études sur le vin", denn Chaptals Werk befindet sich in den öffentlichen Bibliotheken in Kopenhagen nicht.

eintreten wird. Meiner Ansicht nach ist sie eine Vegetation, eine Byssus-Bildung, welche der Fermentsubstanz angehört".

Wir finden also hier die Begriffe Krankheiten und Vegetation miteinander verknüpft, dürfen aber jedoch offenbar nicht Gewicht darauf legen; es ist alles mehr oder weniger als eine losgerissene Idee, als eine unklare Vorstellung anzusehen. Chaptals Mitteilung über diese Frage erfuhr jedenfalls keinen merklichen Einfluſs auf den Gang der Forschung, und ich habe dieselbe nur deshalb erwähnt, weil sie den ersten Keim zur Annahme zu enthalten scheint, daſs zwischen den gedachten Krankheiten und den Mikroorganismen ein Kausalitätsverhältnis besteht.

Eine ähnliche praktische Anwendung von den Versuchen Spallanzanis, wie die oben von Scheele beschriebene, wurde zu Anfang des Jahrhunderts von Appert gemacht. Dieser gab 1810 ein beachtenswertes Buch in Paris heraus, in welchem er ein Verfahren mittels Aufwärmen zur Konservierung verschiedener Nahrungsmittel ausführlich beschreibt.

Er hebt in seinem Buche hervor, daſs er einen groſsen Teil seiner Lebzeit sowohl in den Küchen, wie in den Brauereien, in den Weinkellern, in den Fabriken der Konditoren und Destillateure und in den Magazinen der Gewürzhändler zugebracht habe. Er war kurz gesagt ein praktischer, tüchtiger Mann; man ersieht aber zugleich aus seinem Werke, daſs er als Experimentator ungemein gut veranlagt gewesen, und daſs er wenigstens einen groſsen Teil der Literatur, welche für seine Versuche Bedeutung hatte, studiert hat. Die Erfindung Scheeles erwähnt er jedoch nicht, und er hat dieselbe wahrscheinlicherweise gar nicht gekannt. Falls er etwas davon gehört hätte, lieſse es sich denken, daſs dies durch Gay-Lussac geschehen wäre. 1810 las nämlich dieser berühmte Chemiker, in der Pariser Akademie eine Abhandlung über Apperts Verfahren vor und es ist daher nicht unwahrscheinlich, daſs sie in persönlicher Verbindung miteinander gestanden haben.

Von seinem Verfahren sagt Appert, daſs es hauptsächlich in folgendem besteht: 1. Die aufzubewahrenden Substanzen in Flaschen oder gläsernen Geschirren einzuschlieſsen. 2. Diese verschiedenen Geschirre mit der gröſsten Sorgfalt zuzupfropfen, da wesentlich von der Art und Weise des Verschlusses ein glücklicher Erfolg abhänge. 3. Diese so eingeschlossenen Substanzen der Wirkung des kochenden Wassers in einem Wasserbade, längere oder kürzere Zeit hindurch auszusetzen, je nach ihrer Natur, und auf die für jede Substanz näher angegebene Weise. 4. Die Geschirre zu der vorgeschriebenen Zeit aus dem Wasser zu nehmen. Alle Apparate und Manipulationen sind auf das eingehendste beschrieben, und es werden genaue Vorschriften für die gehörige Behandlungsweise

verschiedener Früchte, Gemüse, Suppen, Milch, Fruchtsäfte u. s. w. gegeben. In ziemlich kurzer Zeit erschienen mehrere Ausgaben seines Werkes sowohl in Frankreich als auch in anderen Ländern. Appert wurde sowohl ein reicher, als ein berühmter Mann.

In der vierten französischen Ausgabe[1]) gibt er eine ausführliche Anleitung zur Benutzung des Autoklaven, einer Modification des papinianischen Topfes. Es finden sich indes in dieser Ausgabe zwei andere Abschnitte, die noch gröfseres Interesse für uns haben; der eine derselben handelt von dem Weine, S. 131, der andere von dem Biere, S. 167.

Appert teilt mit, dafs die feinsten Weine Frankreichs zu seiner Zeit nicht einmal kurze Seereisen vertragen konnten; einige waren sogar so leicht dem Verderben ausgesetzt, dafs man sie überhaupt gar nicht versenden konnte, sondern an dem Orte, wo sie bereitet waren, auch trinken mufste. Diese Weine behandelte Appert auf die folgende Weise: Dieselben wurden in Flaschen bis an den Hals derselben abgefüllt; sodann wurden sie mit Stöpseln hermetisch verschlossen und mit Eisendraht überbunden. Zwischen dem Stöpsel und der Oberfläche des Weines befand sich nun noch ein kleiner, luftgefüllter Zwischenraum. Diese Flaschen wurden nun in ein Wasserbad gebracht, dessen Temperatur er vorsichtig bis auf 70° steigen liefs. Einige wurden dann per Schiff nach St. Domingo gesandt, und als sie nach Verlauf von zwei Jahren zurückkamen, wurden sie untersucht. Zum Vergleich hatte er einige Flaschen des nicht erwärmten Weines in seiner Wohnung hingestellt. Diese letzteren hatten einen unangenehmen Geschmack, während der erwärmte Wein hingegen in jeder Beziehung sich als ganz vorzüglich erwies. Seine Versuche hatten also gezeigt, dafs ein Wein, welcher sonst auf einer Reise wie die erwähnte zu verderben pflegte, in diesem Falle dieselbe ohne irgendwelchen Schaden zu erleiden, zurückgelegt hatte. Mit wohlberechtigtem Selbstgefühl hebt er deshalb hervor, welch bedeutenden Vorteil sein Verfahren gleichfalls auf diesem Gebiete Frankreich bringen könne, indem man hierdurch imstande sein werde, die feinen Weine des Landes auch nach den entferntesten Gegenden der Erde zu versenden.

Das Bier unterzog er der gleichen Behandlung und erhielt einen ähnlichen günstigen Erfolg.

Eine Erklärung von dem, was bei der Erwärmung eigentlich stattfand, vermag Appert nicht zu geben, sondern gelangt hier nicht weiter als zu der Erkenntnis, dafs es „das Prinzip der Gärung“ sei, welches vernichtet

[1]) Le livre de tous les ménages ou l'art de conserver, pendant plusieurs années, toutes les substances animales et végétales; par M. Appert. Quatrième édition. Paris, 1831.

werde. Er sah ja doch, dafs in den von ihm mit Wärme behandelten Substanzen weder Gärung noch Verwesung eintrat. Erst dann kam die Erklärung, als Cagniard Latour und Schwann gezeigt hatten, dafs die Gärung durch die Wirksamkeit mikroskopischer Wesen verursacht wird.

Schon lange bevor eigentlich etwas von den Ursachen, von welchen die Krankheiten gegorener Flüssigkeiten ihren Ursprung haben, bekannt war, hatte man also ein Mittel dagegen gefunden, und zwar obendrein gleich das beste von allen, welches wir noch heutigen Tages besitzen. Was später von verschiedenen Technikern hinzugefügt wurde, sind nur kleine Verbesserungen; in allem Wesentlichen wenden wir die Erwärmungsmethode, wie sie Scheele und Appert ausarbeiteten, an. Eine allgemein giltige Regel gibt es übrigens hier nicht. Wenn man einen guten Erfolg erzielen will, mufs man die Erwärmung je nach der Beschaffenheit der verschiedenen Flüssigkeiten denselben anpassen. Was z. B. für eine Bier- oder Weinsorte pafst, entspricht nicht immer auch einer anderen.

Apperts Verfahren zur Konservierung von Wein und Bier scheint erst eine allgemeine Anwendung gefunden zu haben, als Pasteur die Sache in die Hand nahm. Die Bestrebungen Pasteurs waren besonders darauf gerichtet, für den Wein dieser Behandlungsweise allgemeine Verbreitung zu verschaffen. Sein Mitarbeiter, Velten, führte Versuche mit Bier aus. Jetzt ist das Verfahren unter dem Namen Pasteurisieren über die ganze Welt verbreitet.

Scheeles Namen geriet auf diesem Gebiete völlig in Vergessenheit; nicht viele gibt es, welche daran denken, dafs diese schöne, praktische Erfindung einem Skandinavier zu verdanken ist.

Die Versuche und Ergebnisse Spallanzanis wurden nur von Wenigen gutgeheifsen; besonders wendete man dagegen ein, dafs die in seinen hermetisch verschlossenen Kolben eingeschlossene Luft teils durch das Kochen verändert worden, teils auch in zu geringer Menge zugegen sei, als dafs eine Selbsterzeugung platzgreifen könnte.

In den Jahren 1836 und 37 stellten deshalb Franz Schulze und Theodor Schwann jeder für sich eine Reihe von Versuchen an. Durch diese wurde bewiesen, dafs verschiedene, leicht in Gärung und Verwesung übergehende Substanzen, sich unverändert erhalten können, wenn man dieselben kocht und dafür Sorge trägt, dafs die Luft, mit welcher sie später in Berührung kommen, von ihren Keimen befreit ist. Beide Forscher versahen deshalb ihre Kolben mit Stöpseln, welche je zwei Durchbohrungen hatten, und in jede von diesen brachten sie eine winkelförmige Glasröhre. Die Röhren dienten dazu, Luft in den Kolben zu führen. In Schulzes Versuchen wurde die Luft, die nach dem Kochen eingesogen wurde, dadurch gereinigt, dafs er sie durch eine Schicht Schwefelsäure strömen liefs. Schwann dagegen bewerkstelligte die

Reinigung der Luft durch Glühen. Die Versuche beider zeigten, dafs man beliebige Luftmengen, seien sie auch noch so grofs, in solche Absude leiten kann, ohne dafs Verwesung, Gärung oder Entwickelung von Mikroorganismen eintritt; die Versuche bewiesen mithin gerade das Entgegengesetzte von dem was Needham behauptete und bestätigten die Richtigkeit der Resultate Spallanzanis.

Die Jahre 1836—39 sind in der Geschichte der Mikrobiologie bemerkenswert durch die epochemachenden Untersuchungen von Cagniard Latour und Theodor Schwann. Durch diese wurde nämlich zum ersten Male der Beweis geliefert, dafs die Alkoholhefe aus lebenden Zellen besteht, und dafs diese es sind, welche die Alkoholgärung hervorrufen. Was früher in dieser Richtung mitgeteilt worden war, waren nur blofse Mutmafsungen.

Zu derselben Zeit war Kützing zu einem ähnlichen Resultat gelangt. In seiner Abhandlung hierüber gibt er indes nicht blofs Beschreibungen und Abbildungen von Hefenzellen, sondern auch noch von der Essigmutter und von verschiedenen Schimmelpilzen[1]). Er hat den Unterschied zwischen den Hefezellen und den Zellen der Essigmutter deutlich beobachtet, und wie mangelhaft seine Abbildungen der letzteren auch sind, zeigen sie doch, dafs er wirklich schon zu jener Zeit eine der Bakterien, welche die Essigsäurebildung hervorrufen, entdeckt hat. Dieselbe wird von ihm mit dem systematischen Namen Ulvina aceti bezeichnet, weil sie es ist, welche die sauere Gärung gibt.

Wenn Wein und Bier essigsauer werden, so sagen wir, sie seien von einer Krankheit befallen, und gerade diese rechnen wir zu den allerärgsten. Bei Kützing finden wir zum ersten Male in der Literatur Aufklärungen darüber, wie eine solche Krankheit entstehen kann. Die Bezeichnung Krankheit benutzte er jedoch nicht, und er dachte überhaupt nicht daran, seine Untersuchungen für die Praxis zu verwerten.

Dasselbe gilt ebenfalls von Turpin. Dieser Forscher veröffentlichte 1838 eine für die damalige Zeit berühmte Abhandlung[2]), in der er, ebenso wie Kützing, nicht nur Alkohol- und Essigsäuregärung hervorrufende Pilze, sondern auch noch mehrere andere Mikroorganismen bespricht. Das Hauptresultat, zu dem er gelangte, drückt er S. 134 in dem folgenden Lehrsatz aus: „Keine Spaltung von Zucker, keine Gärung ohne die physiologische Thätigkeit einer Vegetation“. Es war also schon damals bekannt, dafs es verschiedene Mikroorganismen gibt, welche verschiedene Gärungen hervorrufen; allein ein tieferes Verständnis dieser Verhältnisse

[1]) Kützing, Mikroscopische Untersuchungen über die Hefe und Essigmutter. (Journal f. praktische Chemie, Jahrg. 1837, 2. Bd. S. 385.)

[2]) Turpin, Mémoire sur la cause et les effets de la fermentatien alcoolique et acéteuse. Paris. Lu à l'Académie. 1838.

fehlte noch, und von dem Ursprung der mikroskopischen Wesen hatten sowohl Kützing wie Turpin ganz unrichtige Vorstellungen.

Gegen die oben erwähnten Versuche von Schulze und Schwann könnte noch der Einwand erhoben werden, dafs die Luft, welche sie in ihre Kolben einströmen liefsen, im voraus in gewaltsamer Weise behandelt (in Schulzes Versuchen mit Auswaschung in Schwefelsäure, in Schwanns durch Glühen) und hierdurch möglicherweise derart verändert worden war, dafs die tote Substanz schon aus diesem Grunde allein es nicht vermöchte, lebendig zu werden. Gegen diesen Einwand gingen die schönen Untersuchungen, welche 1854 von Schröder und Dusch angestellt wurden. Die von diesen Forschern angewendete Versuchsanordnung war dieselbe wie in den vorhergehenden Fällen; nur wurde an einer der zwei von dem Stöpsel des Kolbens ausgehenden Röhren ein baumwollener Filter angebracht. Durch diesen liefsen sie nach dem Kochen die Luft in den Kolben hineinströmen; die Reinigung der Luft wurde somit in diesem Falle durch eine Filtrierung bewerkstelligt. Sie wählten als Filtrationsmittel Baumwolle, „weil", wie sie sagten, „von ihr bekannt ist, dafs sie ansteckende Krankheitsmiasmen auf ihrer Oberfläche zurückzuhalten und weithin zu verschleppen imstande ist". Die gekochte organische Substanz im Kolben kam in diesem Versuche nicht nur mit grofsen Luftmengen, sondern auch mit einer Luft in Berührung, welche in ihrer Zusammensetzung in keiner Beziehung verändert worden war; nur die darin schwebenden kleinen Körperchen waren entfernt worden.

In ihren Versuchen mit Fleischextrakt und Bierwürze gelangten sie zu dem nämlichen Resultate wie Schwann; wenn sie aber mit Milch und etlichen anderen Stoffen experimentierten, gelang es ihnen nicht immer. Es blieb also noch Unklarheit in mehreren Punkten.

Für die Gärungsindustrie besitzen jene alten Untersuchungen über die Urzeugung noch ein besonderes Interesse dadurch, dafs durch sie nicht nur die Prinzipien für die Sterilisation, sondern auch noch die Modelle für die dazu gehörigen Apparate gegeben wurden. Sie belehrten uns, dafs die Bierwürze nach dem Kochen steril ist, und dafs sie sich in diesem Zustande erhalten wird, auch wenn wir Luft in sie leiten, wenn wir nur dafür Sorge tragen, dass diese Luft von ihren Keimen befreit ist. Die Luftreinigung hat man in der Praxis teils nach Schwanns, teils nach Schröders und Duschs Methoden vorgenommen; namentlich die letztere hat eine sehr grofse Anwendung bekommen. Die von Schulze, Schwann, Schröder und Dusch benutzten Kolben mit gebogenen Röhren sind Modelle geworden für die verschiedenen Kulturkolben, welche wir nunmehr in den bakteriologischen und gärungsphysiologischen Laboratorien anwenden. In den meisten Fällen verschliefsen wir diese Kolben

mittels Schröders und Duschs baumwollener Filter. Es sind namentlich Pasteur und seine Schüler, durch welche diese Technik später zu einem hohen Grade von Vollkommenheit entwickelt worden ist. Die Kulturkolben in den Laboratorien sind wiederum für die grofsen Apparate, welche jetzt in vielen Fabriken zur Reinzucht der Hefe benutzt werden, als Modelle genommen.

Die erste Andeutung davon, dafs einige der Alkoholgärungspilze selbst auch als Krankheitserreger auftretend gedacht werden könnten, finden wir bei Bail[1]). Im Jahre 1857 spricht er nämlich die Anschauung aus, dafs verschiedene Hefenarten oft verschiedene Gärungen hervorrufen. Er weist ferner darauf hin, dafs es möglicherweise von praktischer Bedeutung sein könne, eine planmäfsige Zucht von irgend einer Hefenart vorzunehmen.

Es ist bekanntlich leichter, eine Idee auszusprechen, als durch Experimente zu beweisen, in welchem Grade die Mutmafsungen richtig sind; erst durch eine solche Beweisführung werden aber die wirklichen Errungenschaften erzielt, gleichviel ob dieselben der Wissenschaft oder der Praxis gelten. Bail stellte keine Versuche an, und beschränkte sich darauf, die gedachten Mutmafsungen auszusprechen. Er tritt zudem, sowohl in der obengenannten Abhandlung als noch mehr in seinen späteren, für die Lehre ein, dafs Hormiscium cerevisiae (der Bierhefepilz), ebenso wie andere Hefenzellen, nur eine Entwickelungsstufe höherer Formen, z. B. von Mucor und anderen Schimmelpilzen sei. Dafs seine morphologische Auffassung ganz unrichtig war, haben namentlich De Barys und Reess' Untersuchungen erwiesen.

In zymotechnischen Schriften von den darauffolgenden Jahren finden wir auch dann und wann die Vermutung ausgesprochen, dafs in der Gärungsindustrie, sowohl von Ober- als von Unterhefe, verschiedene Arten oder Rassen auftreten. Beobachtungen in der Praxis selbst mufsten natürlich leicht zu einer solchen Auffassung führen, und die im Vorhergehenden erwähnten Untersuchungen machten wohl auch ihren Einflufs geltend.

Wir sind hiermit bei dem Zeitpunkte angelangt, wo Pasteur auftrat. Derselbe gab nämlich im Jahre 1857 eine Abhandlung über die Milchsäuregärung heraus. In dieser zeigt er, dafs die genannte Gärung durch einen organisierten Körper verursacht wird, welcher seiner damaligen Auffassung nach der Bierhefe nahe steht. Dafs er auf diesem Stadium nicht darüber ins Klare kommen konnte, was für ein Mikroorganismus es eigentlich war, folgt von selbst.

Im Jahre 1860 teilte Pasteur die wichtigsten Ergebnisse seiner zahlreichen und sehr eingehenden Untersuchungen über die Selbst-

[1]) Th. Bail, Über Hefe. (Flora 1857, Nr. 27 und 28, S. 438.)

erzeugung mit. Diese Arbeiten setzte er durch die darauffolgenden Jahre fort, und mit grofser Kraft und Tüchtigkeit trat er gegen die Versuche auf, welche noch hin und wieder von verschiedenen Seiten gemacht wurden, um zu zeigen, dafs Needhams Lehre von der Selbsterzeugung die richtige sei. Pasteur konnte immer in solchen Fällen nachweisen, dafs bei den angestellten Experimenten, wenn auch die Methode im wesentlichen richtig war, irgend ein Fehler begangen worden war; z. B. dafs unreine Luft nicht vollständig abgeschlossen, oder die Erwärmung nicht genügend gewesen war. Dinge, welche wie Kleinigkeiten aussehen, können eben hier eine grofse Bedeutung bekommen. Die Ideen, welche Spallanzani und seine Anhänger verfochten hatten, wurden so durch die scharfsinnigen und ausdauernden Forschungen Pasteurs endlich zum Siege gebracht.

Wir haben oben gesehen, dafs Kützing im Jahre 1837 einige Beobachtungen über eine von ihm entdeckte Essigsäurebakterie veröffentlichte. Diese Untersuchungen wurden von Pasteur wieder aufgenommen und einer eingehenden experimentellen Behandlung unterzogen[1]).

Er gab eine gute Beschreibung und Abbildung der in den französischen Essigbrauereien auftretenden Bakterienvegetation, die er Mycoderma aceti nannte. Durch seine Versuche wurde es mit Sicherheit bewiesen, dafs es diese Vegetation ist, welche die Bildung von Essigsäure hervorruft. Auch die chemischen Seiten der Frage behandelt er. Diese Untersuchung gehört überhaupt zu den hervorragendsten.

In Frankreich benutzt man namentlich Wein zur Darstellung des Essigs. Die Gärung geschieht in nur teilweise gefüllten Fässern von 2—4 hl Rauminhalt und von der gewöhnlichen Gestalt. In passenden Zwischenräumen zapft man eine gewisse Portion Essig aus und füllt eine entsprechende Portion Wein hinein. Dieselben Fässer werden auf diese Weise mehrere Jahre hindurch benutzt, ohne gänzlich entleert und folglich auch, ohne gereinigt zu werden. Unter diesen Umständen entwickeln sich die sogenannten Essigaale in ungeheurer Menge. Pasteur wies nach, dafs diese kleinen Würmer die Entwickelung der Essigsäurebakterien hemmen können und so bewirken, dafs die Gärung in den betreffenden Fässern nicht in der richtigen Weise vor sich geht; man sagt dann in den Fabriken, dafs der Essig krank (malade ou tourné) ist. Auf grund seiner vorerwähnten theoretischen Untersuchungen arbeitete er nun ein neues Verfahren aus. Anstatt der genannten Fässer mit den verhältnismäfsig dicken Flüssigkeitsschichten wendete er flache Bottiche an, in denen der Flüssigkeit eine grofse Oberfläche dargeboten wird, und auf dieser säte er einen

[1]) Pasteur, Mémoire sur la fermentation acétique. (Annales scientifiques de l'École Normale supérieure, T. 1, 1864). — Pasteur, Études sur le vinaigre. Paris, 1868.

kleinen Teil einer Hautvegetation von einer vorhergehenden Gärung aus. Nach wenigen Tagen wird unter diesen Umständen die ganze Menge Alkohol, welche der betreffende Wein enthielt, in der Regel in Essig umgewandelt worden sein. Der Bottich wird danach gereinigt und eine neue Gärung auf dieselbe Weise eingeleitet. Man arbeitet nach diesem Verfahren also schneller als nach dem oben beschriebenen und entgeht den Essigaalen; defsungeachtet hat es keine Verbreitung erlangt. In Frankreich verwendet man noch immer das alte, langsame Verfahren, namentlich in der sogenannten orleanschen Form, und in den übrigen Ländern fast ausschliefslich das neue deutsche, schnelle Verfahren („Schnellessigfabrikation“ mit Hilfe von Holzspänen u. s. w.). Eine nähere Untersuchung der Vorzüge und Mängel der verschiedenen Fabrikationsweisen würde indes hier nicht am Platze sein.

Pasteur fafste die erwähnte Bakterienvegetation als aus einer einzigen Art bestehend auf. Im Jahre 1879 zeigte ich, dafs sie zwei sehr deutlich unterscheidbare Arten in sich fafst, und ich bezeichnete die eine derselben mit dem Namen meines berühmten Vorgängers, indem ich sie Mycoderma Pasteurianum benannte. Zopf und andere Bakteriologen haben später den Gattungsnamen in Bacterium verändert. Die Zahl der Arten ist in der neueren Zeit durch neue, teils von mir, teils von anderen, angestellte Untersuchungen weiter vermehrt worden. Unter diesen Essigsäurebakterien gibt es mehrere, deren Wirksamkeit deutlich verschieden ist; es ist daher wahrscheinlich, dafs man in der Essigfabrikation dereinst dazu gelangen wird, eine ähnliche Reform einzuführen, wie es mir gelang, ihr im Brauereibetrieb Geltung zu verschaffen, nämlich die Anwendung einer Reinkultur einer planmäfsig ausgewählten Art. Bisher wurde jedoch kein Schritt nach dieser Richtung hin gethan; man arbeitet noch immer aufs Geradewohl.

Durch die Untersuchungen Pasteurs und seiner Vorgänger war es also festgestellt worden, dafs es verschiedene Mikroorganismen gibt, welche verschiedene Gärungen hervorrufen: Alkohol-, Milchsäure-, Essigsäure-, Buttersäuregärung u. s. w. Wenn man also eine reine Alkoholgärung, frei von unangenehmen Säurebildungen, erzielen wollte, so müfste man selbstverständlich die Mikroorganismen fernhalten, welche diese letztgenannten Gärungen hervorrufen. Diese Konsequenz zog Pasteur und brachte dieselbe zuerst auf den Wein in Anwendung[1]).

Schon seit alter Zeit war es bekannt, dafs diese Flüssigkeit verschiedenen Umwandlungen ausgesetzt ist, durch die sowohl ihr Geschmack als ihr Aussehen erheblich beeinträchtigt werden können. Sie kann z. B. sauer, bitter, schleimig, trübe u. s. w. werden. Die Ursachen dieser

[1]) Pasteur, Études sur le vin. Paris, 1866.

unliebsamen Veränderungen (Krankheiten) wurden aber erst von Pasteur entdeckt, indem er nachwies, dafs sie durch verschiedene Bakterien verursacht werden. Als ein geeignetes Mittel gegen jene Krankheiten empfahl er, die voran beschriebene Erwärmungsmethode von Scheele und Appert in Anwendung zu bringen. Es mufs dies selbstverständlich in einem frühzeitigen Stadium der Krankheit geschehen, ehe die Bakterien noch Gelegenheit gehabt haben, sich in bedeutendem Mafse zu vermehren; wenn der Wein erst einmal verdorben ist, nützt es nichts, die Feinde zu töten.

Bezüglich der Alkoholgärung des Weines meint Pasteur, dafs man die Bewerkstelligung derselben, wegen der günstigen chemischen Zusammensetzung des Traubensaftes, ohne Gefahr den an der Oberfläche der Trauben und in der Luft zufällig vorhandenen Hefenpilzen überlassen könne. Diese Ansicht sprach er denn auch später in dem unten zitierten Werke, Studien über das Bier, S. 4, aus.

In seinem Buche über die Alkoholgärungspilze [1]) gibt Reefs eine systematische Beschreibung verschiedener Hefenformen und er geht hierbei von der Ansicht aus, dafs die Gestalt und Gröfse der Zellen für sich allein Artcharaktere abgeben. Die grofsen, ovalen Hefezellen werden dann zu Saccharomyces cerevisiae gerechnet, die ovalen, kleineren Zellen zu Sacch. ellipsoideus, die wurstförmigen zu Sacch. Pastorianus u. s. w. Meine Untersuchungen haben, wie man sich dessen aus meinen früheren Abhandlungen erinnern wird, erwiesen, dafs diese Auffassung eine ganz unrichtige ist. Ein und dieselbe Art kann nämlich mit Zellen auftreten, welche zu allen von Reefs als selbständige Arten aufgestellten Formen gerechnet werden können. An die Vorstellung von verschiedenen Arten knüpft sich natürlich ebenfalls die Vorstellung von verschiedenartiger Wirksamkeit; diese beiden Ideen werden denn auch alle von Reefs ausgesprochen.

Seite 21 weist er auf die Möglichkeit hin, dafs das damals in allen Brauereien übliche Verfahren des Wechselns der Hefe etwa darin begründet sein könne, dafs die Hefe von verschiedenen, in den betreffenden Lokalen befindlichen Pilzen verunreinigt werde, und dafs letztere während ihres Wachstums in schädigender Weise in die Wirksamkeit der Hefe eingreifen. S. 40 spricht er auch noch die Vermutung aus, dafs neben Sacch. cerevisiae zugleich Alkoholgärungspilze, welche schädliche Gärungen zu erregen fähig sind, auftreten können.

Im folgenden Jahre erschienen zwei Mitteilungen über durch Alkoholgärungspilze hervorgerufene Krankheiten im Biere, eine von Holzner, die andere von Lintner sen.[2]). Da diese Arbeiten alle beide dasselbe

[1]) Reefs, Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze, 1870.

[2]) Der Bayerische Bierbrauer. München 1871, S. 14 u. 64.

Resultat brachten, sollen sie hier zugleich besprochen werden. Es wird in denselben eine gefährliche Krankheit beschrieben, die damals die Untergärungsbrauereien heimsuchte. Dieselbe äufserte sich damals in der Weise, dafs das Bier nur sehr schwierig in den Lagerfässern klärte, und wenn dies endlich geschehen war, wurde es bei der Abzapfung wieder dick, indem es nämlich durch zahlreiche kleine Hefenzellen getrübt wurde. Bei der mikroskopischen Untersuchung meinten sie, diese zu der von Reefs aufgestellten Art Sacch. exiguus rechnen zu können. Versuche stellten sie keine an, und sie gingen damals davon aus, dafs die von Reefs beschriebenen Arten wirkliche Gröfsen seien. Da dieses, wie wir gesehen haben, nicht der Fall ist, so konnten ihre Untersuchungen auch keine sichere Aufklärung bringen. Sie hatten doch jedenfalls das Verdienst, dafs sie zum ersten Mal die Aufmerksamkeit der Zymotechniker auf die kleinen, leichten Hefenzellen und auf die Gefahren, welche diese möglicherweise hervorrufen können, lenkten.

Seit der Zeit wurden von verschiedenen Verfassern häufig kleine Mitteilungen in den Brauerei-Zeitschriften über Sacch. exiguus veröffentlicht; dieselben brachten jedoch gar nichts Neues, und wir wollen sie daher hier übergehen. Bezüglich meiner eigenen Untersuchungen über diese Art verweise ich auf das Folgende.

Man meinte nun, den genannten kleinen Hefepilz überall zu finden, wo etwas mit dem Bier los war, und immerdar ging man von der irrigen Vorstellung aus, dafs es eine mit Sicherheit bekannte Gröfse sei, die man mit Hilfe des Mikroskops immer zu entdecken vermöchte. Ebenso fafste auch Engel die Sache auf[1]). Der bekannte Brauer Gruber in Strafsburg hatte wahrgenommen, dafs sein Bier von einer eigentümlichen Krankheit befallen wurde, wenn es 6—9 Monate in den Lagerfässern zugebracht hatte. Diese Krankheit bestand darin, dafs eine neue Gärung auftrat, welche das Bier opalisierend machte und demselben einen grünlichen Glanz gab. Wenn diese Gärung aufhörte, klärte sich das Bier, hatte aber dann seinen ursprünglichen, frischen, guten Geschmack mit einem weinartigen vertauscht. Bei Untersuchung dieses Bieres mit dem Mikroskop fand Engel zahlreiche kleine Hefenzellen, die er, wie es damals üblich war, ohne weiteres als Sacch. exiguus bestimmte, ebenso wie er die Vermutung aussprach, dafs sie es sein müfsten, durch welche die gedachte Nachgärung hervorgerufen werde. Die Untersuchungen gingen damals rasch von statten und waren die Resultate aber auch darnach.

Eine Mutmafsung, welche gleichfalls zu jener Zeit vorgebracht wurde, war die, dafs eine jede der verschiedenen Wein- und Biersorten ihre

[1]) Engel, Les ferments alcooliques. Paris 1872, p. 30.

eigene Hefeart habe. Dieses wurde z. B. von Cohn in seinen „Beiträgen zur Biologie der Pflanzen“, Bd. I, Heft 2, 1872, S. 136, ausgesprochen.

Während Engel sich in gutem Glauben an die Auffassung Reefs' in dieser Hinsicht anschlofs, war dies dagegen nicht der Fall mit Cienkowski[1]). Er meint, dafs die von Reefs aufgestellten Saccharomyces-Arten nur Entwickelungsformen von Mycoderma vini seien. Mehrere andere Forscher sprachen gleichfalls eine damit ziemlich genau übereinstimmende Auffassung aus, so z. B. Harz in seinen „Grundzügen der alkohol. Gärungslehre“, 1877. Dieser Standpunkt war damals völlig gerechtfertigt, da die Grundlage der Artbeschreibungen Reefs', wie wir gesehen haben, ja ganz unhaltbar war. Wenn bei dieser veränderten Anschauung überhaupt davon die Rede sein könnte, dafs die Hefenzellen selbst Krankheiten hervorrufen könnten, so müfste man jedenfalls dieses von einem ganz anderen Gesichtspunkte als früher sehen. Man hätte nun nicht länger fremde Arten vor sich, die von aufsen her in die Würze und das Bier eindrängen, um hier eine Konkurrenz mit der Brauereihefe anzufangen, sondern die ganze Frage müfste in ein ganz anderes Gebiet übergeführt werden. Es könnte dann nur von einer Ausartung der Brauereihefe unter verschiedenen Ernährungsverhältnissen die Rede sein. Vom praktischen Standpunkt aus würde die Aufgabe also die sein, diese zu erforschen.

Diese wichtigen Fragen wurden also hin und her diskutiert, ohne dafs man entscheidende Versuche anstellte. Dann erschien im Jahre 1876 das berühmte Werk Pasteurs über das Bier und dessen Krankheiten[2]).

Man wird sich erinnern, dafs er in seinen vorerwähnten Studien über den Wein gezeigt hatte, dafs eine ganze Reihe von Krankheiten in dieser Flüssigkeit durch Bakterien verursacht werden. In seinem neuen Werke wies er nun nach, dafs auch für das Bier etwas Ähnliches stattfindet (S. 4—7). Es mufs ferner hervorgehoben werden, dafs er durch genaue Experimente einen vollgültigen Beweis für die Richtigkeit dieser Lehre führte (S. 20 und 26). Er zog nun die für die Praxis wichtige Folgerung, dafs eine jede Bakterienvegetation, welche die Würze oder das Bier angreifen kann, als für den ganzen Betrieb gefährlich anzusehen ist, und dafs man auf alle Fälle Sorge tragen mufs, die Bakterien möglichst fernzuhalten. Da diese kleinen Wesen durch ihre Gestalt von den Hefezellen unterscheidbar sind, empfahl er, mikroskopische Untersuchungen in den Brauereien, sowohl der Anstellhefe als auch des Bieres, vorzunehmen. Zur Reinigung der Hefe gab er mehrere Verfahren an, empfahl aber hierzu namentlich eine Züchtung in einer mit ein wenig Weinsäure

[1]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut. (Bulletins der Petersb. Akademie, T. XVII, 1873.)

[2]) Pasteur, Études sur la bière. Paris, 1876.

versetzten Rohrzucker-Lösung (S. 224). Es war jedenfalls besonders diese Verfahrungsweise, welche von seinen Schülern anempfohlen wurde.

Hinsichtlich der Hefezellen wiederholte Pasteur an mehreren Stellen seines Werkes (siehe namentlich S. 218—220) die von seinen vorgenannten Vorgängern, Reefs, Engel, Holzner und Lintner, ausgesprochenen Anschauungen. An anderen Stellen (z. B. S. 193) scheint er sich aber vielmehr der entgegengesetzten Ansicht von Cienkowski und Harz, anzuschliefsen, nämlich dafs die Hefezellen einer grenzenlosen und schnellen Variation unterworfen seien, und dafs es keine bestimmten Saccharomyces-Arten (folglich auch keine Krankheitshefenarten) gebe.

In Übereinstimmung hiemit steht auch die von ihm S. 333 ausgesprochene Meinung, dafs Bier-Unterhefe unter Brauereiverhältnissen in Oberhefe umgewandelt werden könne. Indem er (S. 199) eine besondere, von ihm in englischer Brauereihefe aufgefundene Hefeform (käsige Hefe) näher untersucht, weist er auf die Möglichkeit hin, dafs dieselbe eine Entwickelungsform der Kulturhefe sein könne. Da, wo er die Hefenpilze bespricht, ist alles noch im Wellengange begriffen; sichere Grenzen werden nirgends gezogen.

Was die Frage betreffs dem Pleomorphismus angeht, hatte Pasteur im wesentlichen eine ähnliche Anschauung wie die von Bail vertretene, indem er nämlich annahm, dafs die Saccharomyceten Entwickelungsformen von gewissen braunen Schimmelpilzen (Dematium und Alternaria) seien, welche sich z. B. an der Oberfläche verschiedener Früchte finden (S. 154—155, 164—165, 177). Dafs Pasteur zu einer solchen unrichtigen Auffassung gelangen konnte, ist leicht zu begreifen, wenn man bedenkt, dafs er Saccharomyceten (Hefezellen mit Endosporenbildung) von Nicht-Saccharomyceten (Hefezellen ohne Endosporenbildung) nie unterscheidet. Seine Darstellung ist auf diesem ganzen Gebiete reich an widersprechenden Meinungen und ist zunächst als eine Auseinandersetzung verschiedener Möglichkeiten zu bezeichnen. Eine wissenschaftliche Entscheidung wurde in keinem Punkte erreicht. Seiner Vorgänger gedenkt er in der Regel nur, wenn er irgend einen Irrtum in ihren Arbeiten zu berichtigen wünscht; eine geschichtliche Darstellung des vor ihm stattgefundenen Entwickelungsganges findet sich in seinem Werke nicht. Pasteur hat jedoch auch nirgends versprochen, eine solche geben zu wollen, und es ist somit ein grofses Mifsverständnis, wenn man, wie es öfters geschehen ist, sie darin hat finden wollen. Wünschen wir uns darüber zu unterrichten, welche Fortschritte wir den Vorgängern Pasteurs verdanken, so müssen wir diese Belehrung anderswo suchen.

Die Stelle, wo er am deutlichsten von Bier-Krankheiten, welche durch Alkoholgärungspilze verursacht werden, spricht, ist S. 218. Er erwähnt hier, dafs man in einigen Brauereien in den Wintermonaten ein Lagerbier

braut, welches erst im August oder September des nächsten Jahres zum Ausschank gelangen soll, und dafs man für dieses Bier sehr ängstlich sein mufs, dafs es im Verlaufe der langen Lagerungszeit nicht einen weinartigen Geschmack bekomme. „Meinen Beobachtungen zufolge", schreibt er, „scheint dieser weinartige Geschmack hauptsächlich von dem Umstande herzurühren, dafs die Brauereihefe mit Sacch. Pastorianus oder mit dessen Varietäten gemischt ist."

Nur mit grofser Vorsicht gibt also Pasteur seine Meinung zu erkennen; etwas Bestimmtes sagt er nicht. Entgegen der von seinem Vorgänger Engel ausgesprochenen Vermutung, dafs es Sacch. exiguus sei, durch welchen diese Krankheit hervorgerufen werde, stellt er, wie wir gesehen haben, blofs eine neue Vermutung auf, nämlich dafs es vielleicht eine andere Art sein könne. Ebenso wenig wie Engel versucht Pasteur, diese oder die Mikroorganismen, welche die Krankheit verursachen, von der guten Brauereihefe auszuscheiden, um danach Bier herzustellen, das in dem einen Falle mit der letztgenannten Art für sich allein, im andern Falle mit einem Gemisch von dieser und der mutmafslichen Krankheitshefe vergoren wurde. Es ist dies aber der einzige Weg, auf dem wir darüber ins Klare gelangen können, einerseits was Krankheitshefe, und andererseits, was gute Brauereihefe ist. Die Ursache, warum weder Pasteur noch irgend einer seiner Vorgänger solche entscheidende Versuche ausführten, ist die, dafs die Methoden, welche ihnen damals zu Gebote standen, es nicht gestatteten.

Welche Unklarheit noch 1876 bezüglich der beiden grofsen Fragen betreffend reingezüchtete Brauereihefe und durch Alkoholgärungspilze hervorgerufene Krankheiten im Biere herrschte, ist im weitern auch daraus ersichtlich, dafs Pasteur das vorerwähnte Verfahren zur Reinigung der Hefe (Züchtung in mit ein wenig Weinsäure versetzter Saccharose) empfehlen konnte. Insoweit es sich nur darum handelt, die Bakterienentwickelung zu hemmen, ist sein Verfahren untadelhaft; da die Brauereihefe aber in der Regel zugleich gröfsere oder geringere Einmischungen von wilder Hefe enthält, wird die Behandlung mit Weinsäure, wie meine Versuche es gezeigt haben, in den allermeisten Fällen bewirken, dafs die gute Brauereihefe verdrängt wird, die Krankheitshefen aber in ihrer Entwickelung begünstigt werden! (S. meine voranstehende Abhandlung: „Was ist die reine Hefe Pasteurs?") — Um den Standpunkt Pasteurs in rechter Weise zu beurteilen, müssen wir denselben indes im Lichte seiner Zeit sehen. Es läfst sich dann kaum denken, dafs es damals auch nur möglich gewesen wäre, über diese Grundfragen ins Klare zu kommen. Wie wir später sehen sollen, war man noch anfangs der achtziger Jahre auch nicht weiter gekommen.

Ein solches Verfahren wie das von Pasteur angegebene mufste sich natürlich bald für die Brauereien als ganz unbrauchbar erweisen, und in der That wurde dasselbe schnell aufgegeben, wo es auch immer geprüft wurde.

Für die Züchtung der gedachten Hefe konstruierte Pasteur besondere Apparate (S. 326—340). Es war ferner seine Absicht, dafs die offenen Kühlschiffe in den Brauereien beseitigt und durch geschlossene Behälter ersetzt werden sollten, in denen die vom Hopfenkessel kommende siedendheifse Würze abgekühlt und gelüftet werden könnte, ohne irgendwie infiziert zu werden. Auch hierfür konstruierte er einen passenden Apparat (S. 371—378).

Diese Apparate wurden kurze Zeit danach von dem Mitarbeiter Pasteurs, Velten, den praktischen Verhältnissen in den Brauereien angepafst. Wenn Velten auf grund dessen seit einigen Jahren in den französischen Brauereizeitschriften als Erfinder von etwas ganz Neuem aufgetreten ist, so vergifst er jedoch, dafs das Prinzip für die Sterilisation und für die dazu gehörigen Apparate bereits von den Vorgängern Pasteurs vollständig gegeben war; überdies war es Pasteur und nicht Velten, welcher zuerst eine technische Anwendung davon für das Brauwesen machte. Die Konstruktion Veltens ist zudem in mehreren Hinsichten weniger glücklich gewählt.

Diese Apparate bekommen selbstverständlich durch die Hefe ihre ganze Bedeutung. Wenn die Hefe keine wirkliche, von allen Krankheitskeimen befreite Reinkultur ist, so sind sie wertlos. Da die Hefe Pasteurs, wie wir gesehen haben, dieser Anforderung gar nicht genügte, so folgte schon daraus, dafs die Apparate auch nicht Eingang in die Brauereien finden konnten.

Neun Jahre später kamen dieselben in der Praxis des Brauereibetriebes zu Ehren. Wie man sich erinnern wird, gelang es mir im Jahre 1883, in demselben die Reinzucht einer planmäfsig ausgewählten Rasse einzuführen, und als im folgenden Jahre diese wichtige Reform in der Brauerei Alt-Carlsberg und anderwärts eingeführt wurde, war damit auch der Anstofs zur Abschaffung der Kühlschiffe gegeben. Die Apparate, welche aus dieser Veranlassung in Carlsberg konstruiert wurden, weichen in mehreren Hinsichten von denen von Velten konstruierten ab, und zwar namentlich hinsichtlich der Weise, wie die Luft sterilisiert wird. Velten wendete zu diesem Zwecke Schwanns Verfahren durch Glühen an; in den Carlsberger Apparaten wird die Luft dagegen mit Hilfe der im Vorhergehenden besprochenen baumwollenen Filter von Schröder und Dusch gereinigt. Diese Methode hat sich nämlich als viel praktischer erwiesen. (In dem ersten Heft meiner „Unters. aus der Praxis der Gärungsindustrie“ habe ich eine Anweisung zur Reinigung der Luft mittels baum-

wollener Filter, sowie eine Beschreibung des von Hrn. Brauereidirektor Kapt. Kühle im Verein mit mir konstruierten Reinzuchtapparates gegeben.)

Mit meiner reingezüchteten Hefe sind diese Apparate in den letzten Jahren über einen grofsen Teil der Erde verbreitet worden. Wie zu erwarten war, mufste die Reinkultur der planmäfsig ausgewählten Rassen vorausgehen.

Hiermit habe ich den Teil von dem Werke Pasteurs erörtert, welcher direkt auf die in gegenwärtiger Abhandlung zu behandelnden Fragen Bezug hat. Ich habe nicht nur die bedeutungsvollen Fortschritte hervorgehoben, welche die Untersuchungen meines berühmten Vorgängers brachten, sondern auch die Gründe angegeben, warum dieselben die Lösung der beiden wichtigen Probleme über die Krankheiten im Bier und über die reingezüchtete Hefe nicht erbringen konnten. Durch die von Pasteur empfohlene Verfahrungsweise wurde die gute Brauereihefe unterdrückt und die Krankheitshefen begünstigt. Auf dem von ihm eingeschlagenen Wege war es überhaupt nicht möglich, das Ziel zu erreichen.

In demselben Jahre, in dem das vorerwähnte Werk (Pasteur, Études sur la bière) erschien, gab Lintner sen. einige zymotechnische Untersuchungen heraus[1]). Es werden hierin verschiedene Störungen in der Gärung und Krankheiten im Biere, die den Brauereien viele Beschwerden und grofse Geldverluste verursachten, besprochen. Die mikroskopische Untersuchung konnte keinen Aufschlufs geben, und Lintner teilt sogar mit, dafs eine Hefe, welche, nach einer solchen Prüfung beurteilt, als gut bezeichnet werden mufste, dessenungeachtet ein schlechtes Resultat in der Brauerei gab. Umgekehrt erhielt er einen guten Erfolg mit einer anderen Hefe, trotzdem diese der mikroskopischen Untersuchung zufolge gerade als schlecht erschien, indem sie nämlich eine Menge kleiner und unregelmäfsiger Zellen („leichte Hefe") enthielt. Diese anscheinend verwerfliche Hefe gab nichtsdestoweniger ganz normale Gärungen und wurde mit durchgreifendem Erfolg in verschiedenen Brauereien angewendet.

In der That ein ausgezeichnetes Beispiel dafür, wie wenig die mikroskopische Untersuchung für sich allein auf diesem Gebiete auszurichten vermag. Es läfst sich kaum eine schärfere Kritik der damaligen Untersuchungsmethoden denken[2]).

[1]) C. Lintner sen., Über einige Resultate zymotechn. Untersuchungen. (Zeitschrift f. das ges. Brauwesen. München 1876, S. 221).

[2]) Solche ungenügende Verfahren werden leider noch heutzutage in mehreren Brauerei-Laboratorien angewendet, und, was noch schlimmer ist, es werden ganze Theorien darauf gebaut, welche dreist mit der selbstgefälligen Reklame und Dünkelhaftigkeit, welche für die halbwissenschaftliche Literatur kennzeichnend ist, dargestellt werden.

Wenige Werke haben bei ihrem ersten Erscheinen so viel Aufmerksamkeit erregt wie Nägelis Buch über die niederen Pilze[1]). Die Wirkung, welche dasselbe später ausübte, entsprach jedoch den Erwartungen nicht; denn es ist zu arm an Beweisen im Verhältnis zu den vielen Behauptungen, die es enthält. Von den Saccharomyceten und den Bakterien spricht Nägeli S. 20—22 die Anschauung aus, dafs die Arten

Die meisten Brauereizeitschriften sind noch immer nur zu erbötig, ihre Spalten derartigen Artikeln zu eröffnen. Bis zur neuesten Zeit fährt diese halbwissenschaftliche Literatur fort, eine Mitteilung nach der anderen über „leichte Hefe" und „verwilderte Hefe" darzubringen. Wissenschaftliche, experimentelle Untersuchungen bringen diese Autoren keine; mit ein bischen Mikroskopieren glauben sie die Sache abmachen zu können; sie rufen grofse Verwirrung, aber keine Aufklärung hervor. Zuträglich würde es ihnen sein, die oben genannte Abhandlung des alten berühmten Gärungstechnikers zu studieren.

Was man in dieser halbwissenschaftlichen Literatur „leichte Hefe" und „verwilderte Hefe" nennt, sind ganz verschiedene Dinge: Bisweilen werden darunter, wie die Beobachtungen Lintners es zeigen, nur Zellen, welche unter dem Mikroskop ein unliebsames Aussehen haben, trotzdem aber ein gutes Resultat in der Brauerei geben, verstanden. Zuweilen sind es hingegen Zellen, die eine solche Umbildung erlitten haben, welche sie weniger wohlgeeignet machen, die vom Brauer gerade erwünschte Arbeit auszuführen. In meinen verschiedenen Abhandlungen, schon von 1883 an bis jetzt, finden sich hie und da Beobachtungen betreffend diese beiden Fälle, und ich werde hoffentlich später dazu kommen, eine gröfsere experimentelle Untersuchung in dieser Richtung zu veröffentlichen. Die Frage nach den Gesetzen, welchen die Variation der Hefenarten unterliegt, ist eine sehr verwickelte. Wenn die Autoren, gegen welche ich wieder hier meine Vorwürfe richte, meine Arbeiten mit einiger Gründlichkeit studiert hätten, und namentlich diejenigen, welche ich in den letzten Jahren herausgegeben habe, so würden sie ersehen haben, dafs es besonders auf diesem Gebiete grofse Anstrengung kostet, um blofs bescheidene Resultate zu erreichen, und dafs noch ein weiter Weg zurückzulegen ist, ehe wir wirklich daran denken können, allgemein gültige Theorien aufzustellen. Sie würden dann auch wissen, dafs es durch eine mikroskopische Untersuchung einer Hefezelle sich keineswegs entscheiden läfst, wie dieselbe in der Brauerei arbeiten werde. (S. meine „Untersuch. aus der Praxis der Gärungsindustrie". I. Heft. Zweite Ausg. Untersuch. über Unterhefe-Arten.) Und wenn sie solche Experimente wie diejenigen, mit welchen ich und meine Schüler uns beschäftigen, vorgenommen hätten, so würden sie erfahren haben, dafs die Zellen, welche sie von ihrem Standpunkte aus grofse und gute nennen, in vielen Fällen eine Nachkommenschaft geben, welche der Brauer verwerfen mufs, während umgekehrt ihre sogenannten „leichten" und „verwilderten" Hefezellen gerade oft kräftige, gute Zellen sind, die in der Brauerei eine gute Hefe entwickeln. Wenn die Autoren, an welche ich meine Ermahnungen gerichtet, sich bekehren könnten, so würden sie mit Bescheidenheit den grofsen Mysterien gegenüberstehen, welche wir erwähnt haben, und sie würden künftighin viel weniger schreiben, dagegen aber viel mehr experimentieren! Ich wünsche von Herzen, dafs dies geschehen möge; denn die halbwissenschaftliche Literatur ist immer ein Unglück für die zymotechnische Wissenschaft gewesen und ist es noch heutigen Tages.

[1]) Nägeli, Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektionskrankheiten und der Gesundheitspflege. München 1877.

die Fähigkeit zu einer schnellen und reichen Variation, sowohl in morphologischer als in physiologischer Beziehung, besitzen, und dafs viele der Formen sich leicht eine in die andere überführen lassen. Auch hinsichtlich der besonderen Gärungswirksamkeit, welche eine Form besitzen kann, meint er, dafs sie durch Kultur schnell verloren gehe oder in eine ganz andere Funktion umgebildet werde. Laut Nägeli fliefsen sowohl die morphologischen als die physiologischen Formen leicht ineinander über, keine sind konstant. Die chemische Zusammensetzung des Nährbodens, die äufseren Verhältnisse treten als mächtige, schaffende Mächte auf, die in verschiedenen Richtungen Umbildungen hervorrufen. Wie Nägeli sich eigentlich dem Artbegriffe gegenüberstellt, ist übrigens schwer zu ersehen, und experimentelle Beweise für die einzelnen Fälle gibt er, wie schon gesagt, keine. Eine ähnliche Anschauung spricht er auch in seiner „Theorie der Gärung", 1879, S. 120, aus.

In seinen zymotechnischen Rückblicken auf das Jahr 1877 hebt Holzner[1]) hervor, dafs die vorhandenen Untersuchungen den Brauern keine sichere Anweisung geben mit Rücksicht auf das Verständnis der so oft eintretenden Störungen in der Gärung, und er weist besonders auf die über die Hefenarten herrschende Unklarheit hin. Einige halten eine jede Form für eine besondere Art. Andere stimmen dafür, dafs die verschiedenen aufgestellten Arten leicht ineinander übergehen. Wir stehen hier Räthseln und noch unaufgeklärten Fragen gegenüber. Mit Bedauern hebt er hervor: „Bis jetzt ist die Zahl der Hypothesen über das Wesen der Gärung, über die Morphologie, Biologie und Physiologie der Gärungspilze (und Fermente) nicht geringer geworden, sondern hat sich fort und fort vergröfsert". Und er weist auf seinen berühmten Landsmann Nägeli hin als Denjenigen, von dem die Hilfe und die Klarheit etwa zu erwarten wäre.

Wenn man die verschiedenen, in der Periode, zu welcher wir nun gelangt sind, herausgegebenen Brauerei-Zeitschriften durchliest, so findet man, dafs dieselben häufig von Klagen über Störungen in der Gärung und über Verluste und Schwierigkeiten, durch Krankheiten im Bier verursacht, wiederhallen. Eine solche Klage begegnet uns auch in der untenstehenden Abhandlung von Lintner sen.[2]).

Er hebt darin hervor, dafs die Krankheit, welche wir Hefetrübung nennen, überhand nehme. „Die fertigen Lagerbiere", schreibt er, „fassen sich im kühlen Keller scheinbar vollkommen klar vom Lagerfasse ab, werden aber nach kurzer Zeit in den Flaschen oder Fässern in wärmeren

[1]) Holzner, Zymotechn. Rückblicke auf das Jahr 1877. (Zeitschr. f. das ges. Brauwesen. München 1878, S. 142).

[2]) C. Lintner sen., Über Malz und dessen Einfluſs auf die Haltbarkeit und Güte des Bieres. (Zeitschr. f. das ges. Brauwesen. München 1880, S. 384).

Lokalitäten und auf dem Transporte vollkommen trübe. Die Untersuchung solcher Biere zeigt dann kleine Hefezellen, die rasch wachsen und sich vermehren und sich endlich vollkommen absetzen. Die Brauer nennen diese Hefe wegen ihrer Leichtigkeit Flughefe".

Die Ursache hierzu, meint Lintner, liegt teils in dem Einfluſs, welchen schlechtes Malz auf die Ernährung der Hefe haben kann, teils auch darin, daſs die Brauer nicht eine genügende Portion Hefe zu der Würze geben, und daſs sie die Gärung bei einer zu niedrigen Temperatur führen. Lintner nimmt an, daſs die normale Brauereihefe unter solchen Umständen eine unliebsame Umbildung erfahre, so daſs sie die gedachten kleinen, leichten Zellen entwickle, und daſs es auf diese Weise zu erklären sei, daſs die Krankheit entstehe. Eine Bekräftigung der Richtigkeit einer solchen Auffassung findet er in den theoretischen Spekulationen Nägelis. Im folgenden Jahre wiederholte er dieselbe Anschauung[1]).

Wie man sich erinnern wird, war man früher der Ansicht, daſs die beschriebene Krankheit durch Sacch. exiguus verursacht werde. Diese Auffassung hat man 1881 gänzlich aufgegeben. Die Ursache der beschriebenen oder ähnlichen Krankheiten im Biere wird nun nicht länger in fremden Hefenarten und in einer von auſsen her kommenden Ansteckung gesucht, sondern in den Ernährungsverhältnissen, unter welchen die gute Brauereihefe selbst sich befindet. Nachdem die Lehre von Reeſs und Pasteur die Brauer im Stiche gelassen hatte, weist Lintner nun ebenso wie Holzner auf die physiologischen Theorien Nägelis hin als auf eine Errettung. Die meisten damaligen Zymotechniker schlieſsen sich gleichfalls dieser Richtung an, so auch Delbrück und Hayduck in Berlin.

Es traten also nun Diskussionen über die Ausartung und Umbildung der Brauereihefe in den Vordergrund, und man glaubte die Lösung der Hefenfrage auf chemisch-physiologischem Wege finden zu müssen[2]).

Die erwähnten chemisch-physiologischen Untersuchungen, zu welchen Nägeli die Veranlassung gab, haben jedoch in keinerlei Beziehung Klarheit über die Hefenfrage gebracht, auch nicht was die Frage nach der Ausartung und Umbildung der Brauereihefe angeht. Um es überhaupt zu ermöglichen, diese Aufgabe in wissenschaftlicher Weise in Angriff zu nehmen, muſsten meine botanischen Untersuchungen vorausgehen.

[1]) C. Lintner sen., Altes und Neues über Bierbrauerei. (Zeitschr. f. das ges. Brauwesen. München 1881. S. 153).

[2]) Diejenigen, welche die Einzelheiten näher zu studieren wünschen, möchte ich in diesem Punkte, wie auch anderwärts, auf die schon mehrmals citierte „Zeitschrift für das ges. Brauwesen" verweisen. In den 26 Jahrgängen dieser Zeitschrift sind in der That die Urkunden für die Geschichte des Brauwesens in dem genannten Zeitraume niedergelegt.

Auf diesem Umwege wird die Forschung auf diese wichtigen Probleme wieder zurückkommen und es ist nicht unwahrscheinlich, dafs die Ideen Nägelis wieder zu Ehren kommen werden.

Nachdem Pasteur i. J. 1876 seine Studien über das Bier und dessen Krankheiten aufgegeben hatte, wurden zwar in den darauffolgenden Jahren einige Untersuchungen in derselben Richtung von seinen Schülern veröffentlicht, aber keine, welche direkt auf die hier zu behandelnden Fragen Bezug haben. Den Standpunkt, zu welchem die französische Schule i. J. 1883 gelangt war, finden wir in dem Handbuche von Duclaux[1]) angegeben, und wir wollen deshalb hier einen Augenblick bei diesem Werke verweilen. S. 300 spricht Duclaux in einem Kapitel über die Reinigung der Brauereihefe; er empfiehlt das von uns früher erwähnte Verfahren von Pasteur. Dafs dieses Verfahren zum genannten Zweck ganz unbrauchbar ist, da, wie wir gesehen haben, durch Anwendung desselben die Entwickelung einiger der gefährlichsten Krankheitskeime gerade gefördert wird, war also damals noch nicht erkannt. Bezüglich der Untersuchung der Brauereihefe teilt Duclaux S. 471 mit, dafs man mit Hilfe des Mikroskopes entscheiden könne, ob die Hefe rein sei oder nicht. Bei genauerem Nachlesen sehen wir denn auch, in Übereinstimmung hiermit, dafs er, wenn er von Krankheitskeimen spricht, immer nur an Bakterien und nicht an Saccharomyceten denkt; diese Auffassung wird ebenfalls S. 618, wo er die Krankheiten des Bieres in einem selbständigen Kapitel bespricht, wiederholt. Es ist vollkommen derselbe Standpunkt, zu welchem Pasteur vor sieben Jahren gelangt war. In den Angriffen, welche Duclaux und seine Mitarbeiter gegen mich gerichtet haben, gehen sie denn auch noch immer von der Ansicht aus, dafs Pasteur das Richtige getroffen habe.

Zu dieser Zeit bekam die Bakteriologie in Deutschland durch die Untersuchungen von Robert Koch einen neuen Aufschwung, und es versammelten sich schnell zahlreiche Schüler um den berühmten Forscher. Die Aufgaben, mit welchen diese Schule sich beschäftigte, waren hauptsächlich solche, welche für die Arzneiwissenschaft direkte Bedeutung hatten. Nur ausnahmsweise werden von dieser Seite gärungsphysiologische Untersuchungen veröffentlicht; unter diesen sind Hueppes Studien über Milchsäurebakterien besonders hervorzuheben. Den Alkoholgärungspilzen wurde weder von Koch selbst, noch von seinen Schülern irgend welche Aufmerksamkeit zugewendet; insoweit sie deren erwähnten, geschieht dies nur in sehr flüchtiger Weise. Die Ursache hierzu ist leicht zu begreifen, wenn man bedenkt, dafs diese Pilze für den Pathologen und den Hygieniker wenig oder gar kein Interesse haben.

[1]) Duclaux, Chimie biologique. Paris 1883.

Einige Jahre früher hatte Fitz seine wertvollen Untersuchungen über verschiedene Bakterien-Arten und deren Gärungsprodukte begonnen. Diese Arbeiten beschäftigen sich wohl ebensowenig wie die vorgenannten von Hueppe, mit Krankheiten vergorener Flüssigkeiten, beleuchten aber doch gewissermafsen indirekt diese Frage.

Noch im Jahre 1884 sprach Thausing[1]) sich in folgender Weise darüber aus: „Die Wissenschaft hat über Gärungsorganismen und über das Wesen der Gärung schöne Arbeiten geliefert; für die Brauereien direkt Verwertbares hat sie so gut wie nichts geboten, nach wie vor ist der Gärungsprozefs für den Praktiker in ein mystisches Dunkel gehüllt. Die Untersuchungen Hansens über Züchtung reiner Hefe berechtigen uns allerdings zu grofsen Hoffnungen; trügen sie nicht, so stehen wir vor einer Errungenschaft, deren Bedeutung nicht hoch genug veranschlagt werden kann. Vorderhand freilich haben wir noch mit den Verhältnissen zu rechnen, wie sie gegenwärtig bestehen".

Dieses war im Jahre 1884 der allgemeine Standpunkt.

Die Arbeiten, welche ich im Laufe der nächsten Jahre veröffentlichte, und die Resultate, welche dadurch allmählich für die Gärungsindustrie gewonnen wurden, brachten die Zweifel Thausings zum Verschwinden. In der dritten Ausgabe seines berühmten Handbuches über die Bierfabrikation nahm er mein Hefe-Reinzuchtsystem in für mich ehrender Weise auf.

Hiermit sind wir mit unserer historischen Übersicht zu Ende gekommen. Das folgende Kapitel wird von den Untersuchungen über Bierkrankheiten, welche ich seit 1881 angestellt habe, handeln. Mehrere der nebenlaufenden Strömungen, welche auf die Entwickelung der Lehre von Krankheiten in vergorenen Flüssigkeiten Einfluss gehabt haben, sind nur flüchtig berührt, andere gar nicht erwähnt worden. Hierzu gehören namentlich Untersuchungen über durch Pilze hervorgerufene Pflanzenkrankheiten sowie über die durch Bakterien verursachten, ansteckenden Krankheiten beim Menschen und bei den Tieren.

Experimentelle Untersuchungen in der ersteren Richtung wurden bereits zu Anfang dieses Jahrhunderts angestellt, und als ein Bahnbrecher für die damalige Zeit mag der Däne Schöler genannt werden. Auch auf diesem Gebiete arbeitete sich die Forschung langsam, aber sicher zu einer immer gröfseren Klarheit vorwärts. In neuerer Zeit zeichneten sich die dänischen Botaniker A. S. Örsted und E. Rostrup aus. Mit besonderem Glanze strahlen auf diesem Gebiete die Namen Tulasne und De Bary.

[1]) Jul. Thausing, Einfluss der Hefegabe auf Hauptgärung, Hefe und Bier. Aus dem 14. Jahresberichte der ersten österr. Brauerschule in Mödling. Auch in der Allgem. Zeitschr. f. Bierbrauerei. Wien 1884, S. 872.

Bereits bei Linné und mehreren seiner Zeitgenossen finden wir die Idee ausgesprochen, dafs Gärung, Verwesung und ansteckende Krankheiten durch mikroskopische Wesen verursacht werden. Im Jahre 1840 zeigte Henle mit grofsem Scharfsinn, dafs die vorliegenden Thatsachen und Beobachtungen darauf hinwiesen, dafs die ansteckenden Krankheiten vom Eingreifen mikroskopischer Organismen herrühren müfsten. Experimentelle Beweise wurden jedoch erst in neuerer Zeit erbracht und hier erzielten die Untersuchungen Pasteurs den gröfsten Ruhm.

Die junge Wissenschaft von den Mikroorganismen stammt in allem Wesentlichen von der viel älteren über die höheren Pflanzen- und Tierformen handelnden her. Ebenso wie die Biologie überhaupt, hat auch die Mikrobiologie sehr starke und sehr wesentliche Anregungen erfahren, durch die epochemachenden Theorien Darwins über die Umbildungen der Arten. Dieses ist namentlich durch die oben erwähnten Arbeiten Nägelis geschehen.

Schliefslich ist noch die Wechselwirkung hervorzuheben, die zwischen der Mikrobiologie und der Chemie stets stattgefunden hat.

Alle diese verschiedenen Richtungen haben sich gegenseitig befruchtet und auf mancherlei Weise auf einander eingewirkt. Wenn wir in der obigen Darstellung dabei hätten verweilen können, würde dieselbe wohl dadurch an Leben und Fülle gewonnen haben, zugleich aber auch weit über die Grenzen hinaus angeschwollen sein, welche in gegenwärtiger Abhandlung derselben gezogen werden mufsten.

---

3. Meine Untersuchungen.

Aufgabe und Untersuchungsmethode.

In dem vorhergehenden, historischen Teile dieser Abhandlung haben wir gesehen, wie man im Laufe der Jahre zur Erklärung des Verhältnisses, in welchem die Alkoholgärungspilze zu den Krankheiten des Bieres stehen, vielfach herumgeraten und die verschiedensten Möglichkeiten ins Auge gefafst hatte, und dafs, so oft man im Begriffe war, den richtigen Weg einzuschlagen, derselbe bald infolge einer ungeschickten Wendung wieder verlassen wurde, gerade als ob man auf Irrwegen zu wandeln bestrebt gewesen wäre.

Nach dem Erscheinen der Werke Nägeli's trat, wie wir gesehen haben, die Idee vom Ausarten und von der Umbildung der Brauereihefe in den Vordergrund. In derartigen Vorgängen suchte man die Ursache derjenigen Krankheiten des Bieres und derjenigen Störungen im Betriebe, von welchen man annahm, dafs sie von der Hefe herrühren müfsten. Die Gedanken wurden somit immer mehr und mehr von der anderen Hauptmöglichkeit weggeleitet, dafs die Ursache dieser Fatalitäten auch darin gesucht werden könnte, dafs fremde Arten eingedrungen wären

und in ihrer Konkurrenz mit den Kulturarten die Krankheitserscheinungen hervorgerufen hätten. Wie bereits gesagt, war diejenige Ansicht die verbreitetste, nach welcher tiefgreifende Umbildungen der guten Brauereihefe mit Leichtigkeit im Betriebe selbst vor sich gehen könnten, eine Auffassung, der dann das viele Reden von dem „Degenerieren" der Hefe entsprang; auf Experimente liefs man sich nicht ein.

In meiner im Jahre 1879 erschienenen Doktor-Dissertation stand auch ich im wesentlichen auf diesem Standpunkte; beim Durchdenken der Frage gelangte ich jedoch bald zu der Erkenntnis, dafs es ohne Nutzen sein würde, die Diskussionen meiner Vorgänger über etwaige Möglichkeiten fortzusetzen, dafs vielmehr jetzt entscheidende Versuche erforderlich wären, und dafs es am richtigsten sei, bis letztere vorlägen, zu schweigen. Es verstrichen mehrere Jahre mit den vorbereitenden Arbeiten. Vorerst mufste ich eine Reinzuchtmethode ausarbeiten, um mit völliger Sicherheit wissen zu können, ob ich mit einer oder mit mehreren Spezies arbeitete. Ich nahm deshalb meinen Ausgangspunkt vom Individuum, von einer einzigen Zelle. Meine nächste Aufgabe war die, für die derart dargestellten Vegetationen Charaktere ausfindig zu machen, die verwickelten Fragen nach Spezies, Rasse und Varietät zu lösen. Ich habe im Laufe der Jahre diese Probleme von verschiedenen Gesichtspunkten aus behandelt. Die ersten Charaktere fand ich in dem Entwickelungsgange der Sporen, besonders in den Temperatur-Kardinalpunkten. Es ist nunmehr allgemein anerkannt, dafs diese Sporenanalyse grofse Bedeutung in dieser Richtung hat, und ich habe ferner auf dieser Grundlage eine bequeme Methode zur praktischen Untersuchung von Brauereihefe aufbauen können. Deshalb lege ich noch immer ein besonderes Gewicht auf die Charaktere, die uns der Entwickelungsgang der Sporen gibt; allein ich habe niemals, wie oberflächliche Leser meiner Schriften noch öfters behaupten, die Auffassung gehabt, dafs diese Charaktere für sich allein hinlänglich seien, um alle Arten zu bestimmen; im Gegenteil, ich bin immer bemüht gewesen, neue Unterscheidungsmerkmale aufzufinden; auch habe ich deren bereits eine ganze Reihe gegeben (das mikroskopische Bild der Vegetationen in Würzekultur; die Häute; die Vegetationen auf festem Nährboden; das Verhalten gegenüber den Zuckerarten; die Keimung der Sporen u. s. w.).

Die hier berührten theoretischen Studien finden sich in meinen „Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der Alkoholgärungspilze".

In den Jahren 1882 und 1883 boten sich zwei selten günstige Gelegenheiten dar, in der grofsen Praxis die Tauglichkeit meiner neuen Waffen zu prüfen. Ich denke an die Krankheiten, von welchen damals die Brauereien Tuborg und Alt-Carlsberg heimgesucht wurden.

Das Bier in der ersten Brauerei war von Hefentrübung befallen, während sich in der letzteren die Krankheit darin zeigte, dafs das Bier einen unangenehmen Geruch und einen üblen, bitteren Geschmack annahm. Da es nicht möglich war in der Würze oder in der Art und Weise der Gärführung irgend einen Fehler zu entdecken, so mufste ich zunächst annehmen, dafs Mikroorganismen die Ursache dieser mifslichen Zustände seien. Die Prüfungen, welche mit Pasteur's Verfahren zur Reinigung der Hefe gemacht wurden, brachten keine Hilfe. Durch Vergleichung aller Beobachtungen kam ich zu der Vorstellung, dafs die Ursache der Krankheit ohne Zweifel in der Anstellhefe selbst zu suchen sei. Obschon ich bei der mikroskopischen Untersuchung keine anderen fremden Organismen in der Hefe selbst entdecken konnte als einige Bakterien, ging ich doch von der Idee aus, dafs die dem Anscheine nach gleichartigen Hefezellen wohl mehreren Arten angehören, und dafs einige von diesen die Krankheitserreger sein könnten. Das Verfahren bot sich von selbst dar. Ich mufste die Brauereihefe in ihre Bestandteile zerlegen, eine grofse Reihe Reinkulturen derselben darstellen und endlich Gärungsversuche ausführen, teils mit jeder Art für sich, teils mit Mischungen von denselben, wohlgemerkt in einer solchen Weise, dafs die Versuche den Verhältnissen in den Brauereien selbst gleichen würden. Wenn die Vorstellung, von der ich ausging, richtig war, so mufste ich auf diese Weise Kenntnis davon erlangen, welche von meinen Reinkulturen gute Brauereihefe, und anderseits welche von denselben Krankheitshefe enthielten. Eine solche Untersuchung wird heutigestags mit ziemlicher Leichtigkeit in jedem gärungsphysiologischen Laboratorium vorgenommen; damals aber waren Schwierigkeiten zu überwinden. Seitdem hat die Technik sich gerade auf diesem Gebiete in hohem Grade entwickelt.

Die Versuche zeigten, dafs die erwähnten Krankheiten durch Hefenarten hervorgerufen waren, welche von den in der Anstellhefe der beiden Brauereien im Übergewicht vorhandenen beiden Kulturarten, von denen jede für sich allein gutes Bier gab, ganz verschieden waren. Wie die folgenden Abschnitte zeigen werden, gibt es eine nicht geringe Anzahl von Arten, durch deren Einwirkung ähnliche Krankheiten wie die genannten entstehen können. Von allen diesen Krankheitshefenarten gilt, dafs sie sich durch mehrere Kennzeichen deutlich von den Brauereihefenarten unterscheiden. Genaue Experimente haben nun ferner gelehrt, dafs die Krankheitshefen von aufsen her in den Betrieb eindringen, und dafs sie nicht Entwickelungsformen der Brauereihefen sind.

Seitdem es mir gelungen ist, die Reinzucht in den Brauereien einzuführen, hat sich in der Praxis selbst günstige Gelegenheit geboten, wichtige Beobachtungen nach verschiedenen Richtungen hin zu machen. In den beiden Brauereien Alt- und Neu-Carlsberg habe ich nun

seit einer langen Reihe von Jahren diese Züchtung reiner Hefe im grofsen studiert. Niemals zeigte sich ein Anzeichen, dafs die Brauereihefenarten Hefenformen wie die erwähnten krankheitserregenden entwickeln könnten, im Gegenteil, sie behielten unter den Brauereiverhältnissen fortwährend ihre Artencharaktere. Die Theorien von dem Ausarten und der Umbildung der Hefe haben sich also in dieser Hinsicht ganz unrichtig erwiesen.

Wie überhaupt alle Organismen, sind selbstverständlich auch die Brauereihefenarten Variationen unterworfen. So lange sie sich unter Brauereiverhältnissen befinden, zeigen sie jedoch, wie schon erwähnt, nur kleine Abänderungen, und diese sind flüchtiger Natur. Wenn wir sie vom Standpunkte des Biologen aus betrachten, sind wir zunächst dazu geneigt, dieselben als ganz unbedeutend zu bezeichnen; für den praktischen Brauer stellt sich die Sache dagegen ganz anders. Diese Umbildungen können nämlich in unangenehmer Weise hervortreten und zuweilen eine empfindliche Störung verursachen. Wie ein Wellengang bewegen sie sich im Laufe des Jahres durch den Betrieb; von der Ursache haben wir in den meisten Fällen nicht einmal eine Ahnung.

Die Frage nach der Variation der Hefenarten hat also nicht nur ein grofses theoretisches, sondern ein ebenso grofses praktisches Interesse. Eine Übersicht der experimentellen Untersuchungen, welche ich in dieser Richtung bis 1890 ausgeführt habe, findet sich im Kapitel „Über die Variation“ in meinen gegenwärtigen „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie“ I. Heft 2. Ausgabe. Diese Studien werden in meinem Laboratorium ununterbrochen fortgesetzt. Eine nähere Erwähnung derselben ist jedoch in dieser Abhandlung, welche von Krankheiten handeln soll, nicht am Platze. Die Störungen, welche von der Brauereihefe selbst verursacht werden, können wir nämlich nicht als Krankheiten auffassen, wenigstens nicht in dem Sinne, wie wir hier dieses Wort gebraucht haben, und wie dasselbe bisher in der Literatur gebraucht wurde.

In den folgenden Abschnitten werden meine Versuche über durch Alkoholgärungspilze hervorgerufene Krankheiten sowie einige damit in Verbindung stehende Untersuchungen beschrieben. Bei den zahlreichen hierzu erforderlichen Arbeiten sind die Herren Assistenten Gram und Nielsen mir mit vielem Eifer behilflich gewesen.

Hefentrübung im Biere, hervorgerufen durch Saccharomyces ellipsoïdeus II und Sacch. Pastorianus III.

Als ich in den Jahren 1882 und 1883 meine Studien über diese Krankheit begann, gehörte dieselbe zu den am meisten gefürchteten, nicht allein in Dänemark, sondern in noch höherem Grade in Deutschland.

Es war damals gar nicht selten, dafs sie den Untergärungs-Brauereien herbe Verluste verursachte. Wie wir bereits gesehen haben, war man eine zeitlang der Meinung, dafs es ein fremder Hefepilz, Saccharomyces exiguus, sei, welcher diese Krankheit hervorrufe, später huldigte man der Auffassung, dafs ihre Ursache darin zu suchen sei, dafs die gewöhnliche Brauereihefe selbst, Sacch. cerevisiae, degeneriere, so dafs dieselbe, statt grofse, gewichtige Zellen zu entwickeln nur kleine, leichte bilde.

In der Brauerei Tuborg bei Kopenhagen äufserte sich diese Krankheit in folgender Weise: Gleich nach dem Abziehen des angegriffenen Bieres in den kalten Lagerkellern nach Schlufs der Lagerung war dasselbe klar und scheinbar fehlerfrei; nachdem es aber in den Fässern oder Flaschen, in welche es abgezogen war, einige wenige Tage einer höheren Temperatur als der des Lagerkellers ausgesetzt war, z. B. nur gewöhnlicher Zimmerwärme, so bildete sich ein mehr oder weniger reichlicher Hefenbodensatz, der bei einer auch nur ziemlich geringen Bewegung der Flüssigkeit diese trübte. Bei starker Entwickelung der Krankheit wurde das davon ergriffene Bier bereits ein paar Tage nach dem Abzapfen so hefentrüb, dafs es ganz und gar untrinkbar wurde.

Die in dieser Veranlassung von mir angestellten Untersuchungen wurden 1883 in der Zeitschrift des Carlsberger Laboratoriums veröffentlicht. Der Übersicht halber werden hier unten die wichtigsten Resultate derselben mitgeteilt; im Anschlufs hieran folgen die neuen Versuche, welche ich in den späteren Jahren ausgeführt habe.

I. Versuchsreihe. — Aus dem kranken Biere der genannten Brauerei schied ich die darin befindlichen Alkoholgärungspilze aus und erhielt auf diese Weise drei Arten, nämlich eine zur Gruppe Sacch. cerevisiae (Hauptbestandteil der Unterhefe der Brauerei) gehörige und zwei wilde Hefenarten, die ich unter den Namen Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoideus II[1]) in die Literatur eingeführt habe. — Meine Aufgabe war danach, zu entscheiden, ob eine der beiden letztgenannten Arten die Ursache der Krankheit bilde. Zu diesem Zwecke stellte ich vorerst eine Reihe Experimente an mit Hilfe von sechs zweihalsigen Kolben, welche je 700 ccm der gleichen sterilisierten Würze enthielten. Zwei der Kolben, welche mit A gezeichnet waren, wurden dann mit je 1¼ ccm der gedachten Sacch. cerevisiae, die zwei mit B gezeichneten mit 1 ccm derselben Brauerei-Hefeart und aufserdem noch ¼ ccm von Sacch. ellipsoideus II beschickt; zu zwei mit C gezeichneten Kolben wurde ebenfalls je 1 ccm der oft genannten Brauereihefe und aufserdem ¼ ccm von Sacch. Pastorianus III hinzugefügt. Die verwendete Hefe war in allen Fällen dickflüssig und in dieser

[1]) Rücksichtlich dieser sowie der im nachfolgenden erwähnten Arten verweise ich auf die Beschreibungen, welche sich an verschiedenen Stellen in meinen „Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der Alkoholgärungspilze" finden, sowie auf die Zusammenstellung derselben in den S. 24 genannten Werken von Jörgensen und Zopf.

Hinsicht einigermafsen gleich; dieselbe war in Reinkulturen unter gleichen Verhältnissen erzeugt und bestand aus jungen, kräftigen Zellen. Die Hauptgärung ging bei gewöhnlicher Zimmertemperatur vor sich, die Nachgärung während der Lagerung bei ca. 7° C. Zur Lagerung wurden ebenfalls zweihalsige Kolben benutzt; diese wurden mit dem betreffenden Biere stark gefüllt. Nach ca. drei Monate langem Lagern desselben wurde es auf andere sterilisierte Kolben abgezapft, die dann in einen Schrank bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestellt wurden. Es zeigte sich alsdann, dafs das Bier aus B und C nach weniger als 8tägigem Stehenlassen ganz hefentrüb wurde, während dem Biere aus A nach 14 Tagen nichts fehlte.

Hieraus ging also hervor, dafs die eine der drei Hefenarten des kranken Bieres, nämlich Sacch. cerevisiae, ein haltbares Produkt gab, wenn sie in der gärenden Flüssigkeit allein zugegen war, dafs aber anderseits die Krankheit sich einstellte, sobald eine der beiden anderen Arten, gleichviel welche, mit ihr unter den genannten Umständen vermischt wurde.

Sowohl in diesem, als überhaupt in allen den Versuchen, welche allmählich unternommen wurden, um nicht blofs die Natur der hier in Frage stehenden Krankheiten, sondern auch diejenige anderer Krankheiten zu ermitteln, wurde natürlich Sorge getragen, dafs die zu derselben Reihe gehörenden Gärungen in allen Verhältnissen, mit Ausnahme in der Zusammensetzung der Anstellhefe, um deren Einwirkung die Frage sich drehte, übereinstimmten. Es wurde selbstverständlich auch immer mit absoluten Reinkulturen gearbeitet.

Mit verschiedenen Variationen stellte ich im Laboratorium eine ziemlich grofse Anzahl Versuche über die Hefetrübungserscheinungen an; namentlich wurden sie auch mit anderen Bierhefenformen als der genannten aus der Brauerei Tuborg unternommen. Das Ergebnis war das gleiche. Durch Erweiterung der Untersuchungen erhielt ich zugleich die interessante Aufklärung, dafs die beiden Krankheitshefenarten die Krankheit nicht hervorrufen, wenn sie erst am Ende der Hauptgärung, also in dem Stadium, wo die Lagerung beginnt, dem Biere zugefügt werden.

Diese Versuche wurden nun mit gröfseren Massen wiederholt. Es wurden dieselben Fragen wie früher gestellt; aufserdem wünschte ich, Aufklärung darüber zu erhalten, wie grofse Mengen von Krankheitshefe in der Stellhefe vorhanden sein müssen, um die Krankheit hervortreten zu lassen, und endlich, welchen Einfluſs eine geringere oder stärkere Attenuation in der Hauptgärung, sowie eine kürzere oder längere Zeit der Lagerung ausüben würde.

Als Beispiele der Versuche, welche ich mit Rücksicht auf die Beantwortung dieser Fragen unternahm, seien die folgenden hier angeführt.

II. Versuchsreihe. — Zwei Pasteur'sche Gärbottiche, A und B, wurden mit je 165 l gelüfteter Würze (13,5 % Ball.), wie sie in der Brauerei zu gewöhnlichem Lagerbier verwendet wird, beschickt. A wurde mit 660 g dickflüssiger Bierhefe von der Art, welche ich später unter dem Namen „Carlsberger Unterhefe Nr. 1" beschrieben habe, versetzt, der zweite Bottich, B, mit 644 g derselben Hefe und aufserdem noch mit 16 g gleichfalls dickflüssiger Hefe von Sacch. ellipsoïdeus II. Die Vegetationen der beiden Hefearten waren jung, kräftig und unter denselben Verhältnissen erzeugt. Die Temperatur der Würze betrug beim Zugeben der Hefe 7° C., die Temperatur des Raumes während der Hauptgärung 7° bis 10° C. Nach 8tägigem Stehenlassen war die Extraktmenge in A auf 7,6, in B auf 7,5 % Ball. gesunken. Aus jedem Bottiche wurde sodann ein Fafs von 66 l mit dem betreffenden Biere angefüllt und darauf in einen Lagerkeller gelegt, dessen Temperatur 2° C. betrug. Der übrige Teil des Bieres wurde danach einer fortgesetzten Gärung überlassen. Nachdem diese in allem 10 Tage gedauert hatte, betrug die Extraktmenge sowohl in A als in B 6,7 % Ball. Hierauf wurde in Fässer abgezogen und die vergorene Flüssigkeit gleich den ersten Portionen in den genannten Lagerkeller gelegt.

Nachdem die beiden ersten Portionen Bier, dessen Extraktgehalt beim Beginn der Lagerung ca. 7,5 % Ball. war, 2⅓ Monat im Lagerkeller verbracht hatten, wurden sie auf reine, klare Flaschen aus farblosem Glas gezapft und diese dann in einen dunkeln Schrank im Laboratorium gestellt. Gleich nach dem Abzapfen waren in Übereinstimmung mit den früheren Versuchen beide Biersorten ohne jegliche Spur von Hefentrübung; aber schon nach eintägigem Stehen machte sich eine beginnende Hefe-Entwickelung in B bemerkbar; nach fünf Tagen war B deutlich hefentrüb, A dagegen nicht.

Die letzten Fässer, deren Inhalt bei ihrem Verbringen in den Lagerkeller eine Konzentration von 6,7 % Ball. zeigte, wurden nach Verlauf von 3 Monaten ganz wie oben beschrieben behandelt. Das Bier sowohl aus B als aus A war indessen vollständig haltbar; seine Extraktmenge betrug nun 5,9 % Ball.

Diese Versuchsreihe lehrt uns also, dafs die Krankheit noch eintreten kann, wenn Sacch. ellipsoïdeus II nur $^1/_{41}$ der Anstellhefe betrug, aber nur wenn das Bier mit einem Extraktgehalte von wenigstens 7,5 % Ball. in den Lagerkeller gebracht wurde, und wenn die Lagerung unter diesen Verhältnissen nach 2⅓ Monaten unterbrochen wurde. Wurde die Gärung dagegen im Gärkeller fortgeführt, so dafs der Extraktgehalt auf 6,7 % herunterging, und lagerte man dieses Bier wenigstens 3 Monate lang, so zeigte sich die Krankheit nicht mehr.

Dieser Versuch wurde wiederholt, aber mit der Veränderung, dafs zur Anstellhefe für den Bottich B $^1/_{41}$ von Sacch. Pastorianus III anstatt Sacch. ellipsoïdeus II verwendet wurde. Das Hauptergebnis blieb das gleiche; es zeigte sich jedoch sowohl in diesem als auch in einigen anderen Versuchen, dafs die letztere Hefeart die schlimmere ist.

Endlich wurden auch Versuche mit grofsen Mafsen angestellt, um zu erfahren, welchen Einfluſs es hat, wenn die Infektion erst am Ende der Hauptgärung erfolgt.

III. Versuchsreihe. — Das zu dieser Versuchsreihe verwendete Lagerbier und Exportbier wurde dem Gärkeller der Brauerei Alt-Carlsberg in dem Stadium entnommen, in dem seine Überführung in den Lagerkeller vor sich geht. Mit jeder Biersorte wurden drei Fässer, A, B und C, je 16½ l fassend, gefüllt. B wurde sodann mit 10 ccm Hefe von Sacch. ellipsoïdeus II und C mit 10 ccm Hefe von Sacch. Pastorianus III infiziert; die mit A gezeichneten wurden nicht infiziert, sondern dienten zur Kontrolle. Die Hefe war dickflüssig und bestand, gleich wie in allen den bisher erwähnten Versuchen, aus jungen, kräftigen Vegetationen, die in Würzekulturen erzeugt waren. Nachdem die Versuche auf diese Weise angestellt waren, wurden die Fässer in den Lagerkeller der Brauerei gelegt und hier in gewöhnlicher Weise beinahe 2½ Monate lang lagern gelassen, also eine verhältnismäfsig sehr kurze Lagerungszeit für das Exportbier. Die Temperatur betrug 2° C.

Nach Ablauf der Versuchsdauer stellte sich dann heraus, dafs das stark infizierte Bier in jeder Beziehung vorzüglich war, und dafs seine Haltbarkeit derjenigen des nicht infizierten gleichkam. Das Ergebnis blieb also auch in diesem Falle das gleiche wie bei den Versuchen mit den kleinen Mafsen im Laboratorium.

Die obigen Versuche sind in meiner vorgenannten Abhandlung von 1883 beschrieben. Ich werde nun dazu übergehen, einiges über die Untersuchungen, welche ich seitdem über diese Krankheit angestellt habe, mitzuteilen.

Die in den grofsen Pasteur'schen Gärbottichen ausgeführten Versuche stimmen so genau mit den Verhältnissen in den Brauereien überein, dafs ich keinen Anstand nahm, die gewonnenen Resultate auf die praktischen Verhältnisse zu übertragen. Die einzigen Einwendungen, welche hiergegen erhoben werden können, sind die, dafs diese Gärbottiche von den in den Brauereien gewöhnlich angewendeten dadurch verschieden sind, dafs sie es der Kohlensäure nicht gestatten, mit der Leichtigkeit zu entweichen, wie dies unter den normalen Brauereiverhältnissen geschieht. Ferner war die Temperatur in dem Lokal, in welchem meine Bottiche standen, ein wenig höher als dieselbe in den Gärkellern der Brauereien zu sein pflegt. Es war mir daher sehr lieb, dafs Herr Brauereidirektor Kapitän Kühle mir eine Abteilung der Gärkeller auf Alt-Carlsberg zu meinen neuen Versuchen gütigst überliefs. Für das mir so gezeigte Entgegenkommen drücke ich denn auch öffentlich hierdurch meinen besten Dank aus. — Von jetzt an wurden alle meine praktischen Untersuchungen vor Abschluſs derselben einer Prüfung in der Brauerei unterworfen. Die Laboratoriumsversuche mit den kleinen Mafsen können in Wirklichkeit nur als vorläufige Richtschnur dienen, und es läfst sich nicht

ohne weiteres aus diesen schliefsen, was im Betriebe unter den grofsen, praktischen Verhältnissen geschehen wird. Wenn man solche Versuche in der Brauerei selbst ausführt, mufs man natürlich die gröfste Sorgfalt und Vorsicht dabei verwenden; nur dann kann man dieselben vornehmen, ohne dafs sie dem Betriebe gefährlich werden.

IV. Versuchsreihe. — Im genannten Gärkeller wurden drei Bottiche, A, B und C, aufgestellt; dieselben waren aus Holz und hatten die gleiche Gestalt wie gewöhnliche Gärbottiche. In jeden wurde eine Tonne (1½ hl) Lagerbierwürze, 14 % Ball., gebracht.

Zu A gab man 400 g Carlsberger Unterhefe Nr. 2
„ B „ „ 350 g „ „ Nr. 2 und 50 g Sacch. Pastorianus III
„ C „ „ 350 g Carlsberger Unterhefe Nr. 2 und 50 g Sacch. ellipsoïdeus II.

Die Temperatur der Würze betrug zur Zeit der Hefengabe 7,5° C. Nach 8 Tagen war der Extraktgehalt in A 8,13, in B 8,21 und in C 8,29 % Ball. Die Klärung in A war gut, in B und C nur ziemlich gut. Das Bier aus jedem Bottiche wurde dann auf zwei gleich grofse Fässer gezapft, welche gespundet und in einen Lagerkeller gelegt wurden, dessen Temperatur ½—2½° C. betrug.

Nachdem das Bier 1 Monat an diesem Orte zugebracht hatte, war es in allen Fällen klar und hatte das Aussehen und den Geschmack eines guten, normalen Bieres, wie dieses in den Handel gebracht wird. Aus jedem Fasse wurde auf die oben beschriebene Weise eine gröfsere Anzahl Flaschen abgezapft, welche dann in einen dunkeln Schrank bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestellt wurden.

Nach 8 Tagen war das Bier aus A noch immer klar, ohne wahrnehmbaren Bodensatz, während das aus B und C einen solchen in ziemlich starkem Mafse entwickelt hatte, der beim Schütteln die Flüssigkeit trübte.

Die in diesem Versuche benutzte Brauereihefeart gehört zu denjenigen, welche nach kurzer Lagerung klares Bier mit vollmundigem Geschmack, aber mit ziemlich geringer Haltbarkeit geben.

Nach 12tägigem Stehen der Flaschen begann auch in dem aus A stammenden Biere ein deutlicher Hefenbodensatz sich zu zeigen; das Bier aus B und C war jedoch in dieser Beziehung viel stärker angegriffen.

Das gleiche Hauptresultat gab ein ähnlicher, mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und den beiden Krankheitshefearten ausgeführter Versuch, bei welchem die Lagerung jedoch 1 Monat länger fortgesetzt wurde. Gleichwie in früheren Versuchen erreichte das mit dieser Brauereihefe vergorene Bier eine viel gröfsere Haltbarkeit als das mit Carlsberger Unterhefe Nr. 2 hergestellte.

Wie zu erwarten war, riefen die beiden wilden Hefenarten also auch dann die Krankheit hervor, wenn die Gärung in der Brauerei selbst und unter den daselbst obwaltenden Verhältnissen geführt wurde; Sacch. ellipsoïdeus II war die schlimmste der beiden Arten.

Es erübrigt noch, zu untersuchen, was mit dem Biere geschieht, wenn dasselbe erst nach beendigter Lagerung mit den beiden Arten in

Berührung kommt, also in den kleinen Fässern und in den Flaschen, in welche es abgezapft wird, um zum Ausstofs zu kommen.

Für diese Versuche benutzte ich Halbflaschen aus klarem, farblosem Glase von der zum Abzapfen von Bier im Handel allgemein üblichen Gröfse und Gestalt; jede Flasche faſste ca. 350 ccm. Nachdem dieselben gereinigt waren, wurden sie sowie die zugehörigen Pfropfen sterilisiert. Nach dem Füllen der Flaschen, welches mit grofser Sorgfalt ausgeführt wurde, wurden die Portionen der beiden Krankheitshefen, deren Wirkung zu untersuchen war, eingeführt, und die Flaschen sorgfältig verschlossen. Hierauf wurden sie gut geschüttelt und zuletzt in einen dunklen Raum bei gewöhnlicher Zimmerwärme gestellt. Die Infektion war in allen Fällen reichlich, jedoch immer in dem Mafse, dafs das Bier gleich nach dem Schütteln klar blieb. Auch die nicht infizierten Flaschen, die zusammen mit den anderen zur Kontrolle hingestellt wurden, wurden natürlich ebenso wie diese geschüttelt und in jeder Hinsicht auf dieselbe Weise wie diese behandelt, nur mit dem Unterschiede, dafs sie nicht infiziert wurden. Es wurde übrigens bei diesen ebenso wie bei den früher erwähnten Versuchen auf die Nachahmung der praktischen Verhältnisse Gewicht gelegt. Das Bier, gewöhnliches Lagerbier, entstammte der Brauerei Alt-Carlsberg; nur in einigen wenigen Fällen benutzte ich Bier aus einigen meiner eigenen mit Reinkulturen von Brauerei-Unterhefe ausgeführten Gärungen. Das letztgenannte Bier näherte sich in seiner chemischen Zusammensetzung dem erwähnten Lagerbier, dessen Alkoholgehalt 4,3 % und Extraktgehalt 5,6 % betrug.

Von den mit Rücksicht auf die oben angegebenen Fragen ausgeführten Versuchen seien hier die drei folgenden als Beispiele mitgeteilt.

V. Versuchsreihe. — Junge, kräftige Vegetationen der beiden Krankheitshefearten, welche in gewöhnlichen Würzekulturen erzeugt worden waren, wurden in ziemlich dünnflüssigem Zustande zum Infizieren von 12 Flaschen Lagerbier angewendet. Zu je einer von drei Flaschen wurde ein Tropfen von Sacch. Pastorianus III gegeben; ferner wurden drei Flaschen mit je drei Tropfen derselben Hefeart infiziert; sechs Flaschen wurden in gleicher Weise mit Hefe von Sacch. ellipsoïdeus II versetzt; drei nicht infizierte Flaschen dienten zur Kontrolle.

Nach 10tägigem Stehenlassen waren alle noch klar, ohne bemerkbaren Bodensatz.

Vier Tage später war dieses bei den Kontrollflaschen immer noch der Fall. In den mit Sacch. Pastorianus III infizierten Flaschen wurde ein kleiner Bodensatz gefunden, welcher bewirkte, dafs die Flüssigkeit durch Schütteln verschleiert wurde. Die Flaschen mit der andern Krankheitshefe hatten zu dieser Zeit einen stärkeren Bodensatz entwickelt; die drei, welche je einen Tropfen empfangen hatten, wurden durch Schütteln schwach hefentrüb, die drei jedoch, welche je drei Tropfen empfangen hatten, zeigten eine starke Hefentrübung.

VI. Versuchsreihe. — 24 Flaschen wurden infiziert, je 12 Flaschen mit einer der beiden Arten. Die Hefe war in Flaschen mit Lagerbier erzeugt, welche ca. 10 Tage bei gewöhnlicher Zimmerwärme gestanden hatten, und welche häufig geschüttelt worden waren, um die Vermehrung zu beschleunigen. Sie bestand aus einer kräftigen Vegetation und wurde in ziemlich dünnflüssigem Zustande verwendet. Mit Sacch. Pastorianus III wurden vier Flaschen infiziert mit je einem Tropfen, vier mit je zwei Tropfen, zwei mit je vier Tropfen und zwei mit je acht Tropfen. In gleicher Weise wurden zwölf Flaschen mit Hefe von Sacch. ellipsoïdeus II infiziert; drei Flaschen dienten zur Kontrolle.

Nach dem 7tägigen Stehen dieser Flaschen wurde nur in den zwei, welche je acht Tropfen von Sacch. ellipsoïdeus II empfangen hatten, ein bemerkbarer Bodensatz gefunden; die Flüssigkeit in diesen wurde nach dem Schütteln schwach verschleiert; alle übrigen Flaschen waren klar und ohne Bodensatz.

Nach 14tägigem Stehen waren die Kontrollflaschen sowie die zehn mit Hefe von Sacch. Pastorianus III infizierten Flaschen vollständig klar und ohne wahrnehmbare Hefe-Entwickelung; die zwei Flaschen, welche je acht Tropfen von dieser Hefeart empfangen hatten, waren ebenfalls klar; bei näherer Betrachtung liefs sich aber in ihnen ein kleiner Bodensatz erkennen; durch Schütteln wurde das Bier jedoch nur wenig verschleiert. Die vier Flaschen, welche je einen Tropfen von Sacch. ellipsoïdeus II empfangen hatten, verhielten sich wie die Kontrollflaschen; die übrigen zeigten dagegen je nach der Stärke der Infektion schwächere bezw. stärkere Anzeichen der Hefentrübung. Nach dem Umschütteln wurden jedoch nur diejenigen Flaschen deutlich hefentrüb, welche am stärksten infiziert worden waren (vier bezw. acht Tropfen).

Einige Versuchsreihen, welche auf dieselbe Weise wie die beiden vorhergehenden ausgeführt wurden, aber unter Anwendung von Faſsgeläger, gaben im wesentlichen dasselbe Resultat. Dieses Faſsgeläger entstammte einigen der in der Beschreibung der Versuche, in welchen die beiden Krankheitshefenarten zusammen mit der Stellhefe am Beginn der Hauptgärung der Würze zugegeben waren, erwähnten Lagerfässer. Die Zellen, welche bei diesen Versuchen in die Flaschen eingeführt wurden, waren also unter Brauereiverhältnissen im Gär- und Lagerkeller erzeugt. Sie waren weniger kräftig als in den vorhergehenden Fällen, und hierin suche ich die Ursache, warum die Wirkung etwas schwächer ausfiel.

Auch in den Versuchen, welche angestellt wurden zur Ermittelung des Einflusses, welchen eine erst in dem Stadium, wo das Lagerbier zum Verschleifs auf die Flaschen gezapft wird, vorgenommene Infektion hat, stellte es sich also heraus, dafs Sacch. ellipsoïdeus II die kräftigere der beiden Krankheitshefen ist. Wir erfuhren weiter, dafs die Wirkung der Infektion eine bedeutendere war, wenn sie mit jungen, kräftigen Zellen, welche im Laufe weniger Tage in Würze erzeugt waren, als wenn sie mit der einer langwierigen Gärung entstammenden Vegetation vorgenommen wurde. Damit Sacch. Pastorianus III sich unter diesen Verhältnissen geltend machen konnte, mufsten dem Flaschenbier so

grofse Mengen davon zugegeben werden, wie sie meiner Ansicht nach in der Praxis niemals vorkommen. Die andere Art verhielt sich, wie schon gesagt, etwas anders. Wenn die zur Infektion angewendete dünnflüssige Hefe aus jungen, kräftigen Zellen bestand, war es nämlich hinreichend, einen Tropfen davon in jede Flasche zu bringen, um zu bewirken, dafs das Bier nach 14 Tagen hefentrüb wurde, während das Bier in den Kontrollflaschen sich ungefähr drei Wochen lang hielt. Eine stärkere Infektion rief schneller Hefetrübung hervor. Diese Art wird sonach auch in diesem Punkte in der Praxis Störungen hervorrufen können. Eine starke Lüftung des Bieres während des Abziehens sowie ein schlechtes Pfropfen der Flaschen fördert die Entwickelung wilder Hefenzellen. Schwach vergorenes und an Extrakt reiches Bier ist denn auch der Ansteckung mehr ausgesetzt als anderes Bier. Dieses gilt von dem Biere sowohl am Beginn als am Schlufs der Lagerung. Die geringe Infektion, welche der Staub der Luft mit sich bringen kann, wird in dieser Hinsicht kaum Bedeutung erlangen können. Wenn Bier, welches während seines Aufenthaltes in den Lagerfässern gut war, nach dem Abziehen von der hier besprochenen Krankheit befallen wird, so liegt die Ursache, dem Vorhergehenden gemäfs, darin, dafs die Flaschen und Transportfässer nicht gehörig gereinigt waren. Eine geringe Infektion in dem abgezogenen Lagerbiere ist ohne Wirkung; sogar von Sacch. ellipsoïdeus II mufs die Infektion verhältnismäfsig stark sein, um sich geltend zu machen.

Was von der Infektion des Lagerbieres in Flaschen gesagt wurde, wird im wesentlichen auch für dasselbe Bier, wenn es auf die kleinen Transportfässer abgezogen ist, Giltigkeit haben.

Auch fehlerfreies Bier, das mit einer Reinkultur einer guten Brauereihefeart vergoren, wird nach genügend langem Stehen Hefenbodensatz in den Flaschen und Fässern, in welchen es sich nach dem Abziehen befindet, bilden. Derselbe entwickelt sich jedoch, wie wir bereits gesehen haben, viel langsamer als der von den Krankheitshefen gebildete. Als Regel fand ich auch, dafs in den beiden Fällen ein deutlicher Unterschied in der Beschaffenheit des Bodensatzes hervortrat. Wenn das gute Bier geschüttelt wurde, wurde es dessenungeachtet nicht undurchsichtig und trübe; die Hefenschicht ballte sich nämlich zu kleinen Klümpchen und Bröckchen zusammen, und diese Partikeln sanken wieder schnell zu Boden. Die Hefe im kranken Biere lag dagegen nicht fest; im Gegenteil, bei geringer Bewegung der Flüssigkeit stieg eine ganze Wolke von Zellen auf, während bei starkem Schütteln solches Bier schlammig wurde.

Bei keinem der zahlreichen Versuche, die ich mit den beiden Hefenarten angestellt habe, beobachtete ich, dafs dieselben dem Biere einen unangenehmen Geschmack und Geruch mitgeteilt hätten, auch nicht in den Fällen, wo sie eine ausgeprägte Hefentrübung hervorgerufen hatten. Feine Bierkenner konnten zwar einen Unterschied bemerken, derselbe machte sich aber nicht als Krankheit bemerkbar.

Bevor ich dieses Kapitel schliefse, will ich hier einige Beobachtungen über die eine der darin besprochenen Krankheitshefenarten, Sacch. Pastorianus III, mitteilen.

In einer meiner früheren Arbeiten habe ich in Kürze einige Beobachtungen berührt, welche ich betreffs der Bedeutung des Lüftens der Würze angestellt hatte. Durch Züchten von Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und 2, jede für sich in gelüfteter Würze, erhielt ich eine Stellhefe, welche unter Brauereiverhältnissen gute, normale Klärung gab. Wurden dagegen die nämlichen beiden Hefenarten in einer ganz ähnlichen, aber nicht gelüfteten Würze gezüchtet, so erhielt ich eine Hefenvegetation, welche erst, nachdem sie mehrere Gärungen in der Brauerei durchgemacht hatte, wieder in der normalen Weise zu arbeiten befähigt war. Die Hefe Nr. 2 kehrte jedoch schneller zu ihrer ursprünglichen Arbeitsweise zurück als Nr. 1; beide waren einer vorläufigen Umbildung unterworfen worden, die eine jedoch in höherem Grade als die andere.

Das durch Gärung der nicht gelüfteten Würze erzeugte Bier war in hohem Grade opalisierend; eine verlängerte Lagerung desselben schaffte in dieser Hinsicht in der Regel nur wenig Abhilfe; das Bier blieb trüb, auch nachdem es mehrere Tage lang gewöhnlicher Zimmerwärme ausgesetzt gewesen war. Es gilt dies besonders von dem mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1 erzeugten Biere. Die gelüftete Würze gab klares Bier, die nicht gelüftete trübes, opalisierendes.

Wenn ich dagegen in die nicht gelüftete Würze eine Stellhefe brachte, welche nicht allein aus einer der genannten Unterhefenarten bestand, sondern aufserdem noch mit einer kleinen Portion der Krankheitshefeart Sacch. Pastorianus III versetzt worden war, so gestaltete sich das Ergebnis ganz anders. In diesem Falle wurde auch das von der nicht gelüfteten Würze erzeugte Bier klar; die Krankheitshefeart hatte also hier als eine Art Heilmittel gewirkt.

Als ich einige Jahre später diese Versuche wiederholte, wurde das Ergebnis ein anderes. Als Regel ergab sich nun, dafs auch das Bier der nicht gelüfteten Würze klar wurde; doch wurden diese neuen Versuche ebenso wie die früheren mit Würze von gewöhnlichem Lagerbier aus der Brauerei Alt-Carlsberg und mit den nämlichen Hefenarten angestellt. Einige der Versuche wurden im Laboratorium mit Hilfe von 10 l Kolben, welche mit 7 l der Würze beschickt waren, ausgeführt,

andere in einem Gärkeller unter Brauereiverhältnissen. Die Lagerung erfolgte in allen Fällen bei einer Temperatur von 1—2 ° C., sowie ich überhaupt bemüht war, die Verhältnisse der Praxis möglichst genau nachzuahmen. Nur in einem dieser neuen Versuche wurde das Bier aus der nicht gelüfteten Würze opalisierend. Dieser Versuch wurde in vier von den bereits erwähnten Bottichen im Gärkeller von Alt-Carlsberg angestellt; in dem ersten wurde die Gärung mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1 ausgeführt, im zweiten mit einem Gemische von dieser Hefe und Sacch. Pastorianus III; im dritten mit Carlsberger Unterhefe Nr. 2 und im vierten mit einem Gemische von der letztgenannten Hefe und Sacch. Pastorianus III. Das Hauptergebnis war dies, dafs das vermittelst Carlsberger Unterhefe Nr. 2 dargestellte Bier nur schwach opalisierte, während das Bier von Carlsberger Unterhefe Nr. 1 ein starkes Opalisieren zeigte. Das Bier aus dem Bottiche, in dem die Hefe aus Carlsberger Unterhefe Nr. 2 und Sacch. Pastorianus III bestand, war gleich nach dem Abziehen blank, während das aus dem vierten Bottiche stammende Bier, in dem die Hefe aus Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und Sacch. Pastorianus III bestand, ziemlich stark opalisierte; doch war dieses hier in viel geringerem Grade der Fall als bei dem dem ersten Bottiche entstammenden Bier. Sacch. Pastorianus III hatte also die früher erwähnte Wirkung auf das opalisierende Bier ausgeübt.

Die wahrscheinlichste Erklärung dieser Schwankungen wird wohl darin zu finden sein, dafs die chemische Zusammensetzung der Würzen, mit denen ich zu verschiedenen Zeiten experimentierte, eine verschiedene gewesen sein wird. Die Untersuchungen haben uns jedenfalls gelehrt, dafs Sacch. Pastorianus III, der unter gewissen Umständen als eine gefährliche Krankheitshefeart auftreten kann, unter anderen befähigt ist, als Heilmittel zu wirken. Wir haben ferner gesehen, dafs die Würze eine solche Beschaffenheit haben kann, dafs sie der in den Brauereien üblichen Lüftung, welche bisher zur Erreichung einer guten Gärung und klaren Bieres für ganz notwendig angesehen wurde, nicht ausgesetzt zu werden braucht. Bezüglich der Bedeutung des Lüftens ist unser Wissen noch sehr gering, und eine eingehende Untersuchung nach dieser Richtung hin wird daher von grofsem Wert sein. Die obigen Beiträge habe ich hier mitgeteilt, weil ich glaube, dafs sich mir keine Gelegenheit mehr bieten wird, darauf zurückzukommen.

An dieser Stelle, wo von Schwankungen in der Wirksamkeit der Hefenarten die Rede ist, möchte ich auch die Beobachtung mitteilen, dafs dieselbe Zugabe von Krankheitshefe in einigen meiner Versuche sehr starke, in anderen dagegen nur sehr schwache Krankheitserscheinungen hervorrief; und dennoch schienen die

Versuche im wesentlichen auf die gleiche Weise ausgeführt zu sein. Der im Laufe des Jahres in der chemischen Zusammensetzung der Würze in derselben Brauerei stattfindende Wechsel mag zum Teil Schuld daran tragen; es ist aber auch denkbar, dafs eine vorläufige Umänderung im Zustande der Zellen eine Rolle dabei spielt. Wir stehen hier überhaupt ähnlichen Phänomenen gegenüber wie jenen, welche in der Literatur über die pathogenen Bakterien so häufig erwähnt werden. In der Konkurrenz, welche zwischen der Brauereihefe und den Krankheitshefenarten stattfindet, macht sich die Akkommodationsfähigkeit der Zellen denn auch allmählich immer mehr und mehr geltend. Über diese letzte Frage werde ich, wie ich hoffe, in meinen theoretischen Studien dazu kommen, einige Aufschlüsse mitzuteilen.

Hauptresultat. — Wir haben nun das Bier durch alle Stadien der Gärung auf seinem Wege von dem Gärbottich bis zum Lagerfasse und schliefslich von diesem zu den Konsumenten verfolgt. Unsere Untersuchungen haben uns gelehrt, dafs es zwei Hefenarten sind, Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoïdeus II, welche, wenn sie sich in der Anstellhefe befinden und somit am Beginn der Hauptgärung der Würze zugegeben werden, die Krankheit hervorrufen. Eine der Versuchsreihen zeigte, dafs die Krankheit noch eintreten kann, wenn die Krankheitshefe nur $^1/_{41}$ der Anstellhefe betrug, dafs man sie aber anderseits unterdrücken kann, wenn für eine starke Vergärung und genügend lange Lagerung Sorge getragen wird. Sind gröfsere Portionen der Krankheitshefe zugegen, so ist es schwieriger, zuweilen ganz unmöglich, den Ausbruch der Krankheit abzuwehren.

Eine erst am Schlusse der Hauptgärung, beim Verbringen des Bieres in den Lagerkeller, stattfindende Infektion war dagegen ohne Wirkung. Bier, welches, ohne infiziert zu sein, den Gärkeller verläfst, wird in der Regel von der Krankheit nicht befallen, selbst wenn es in den Lagerfässern oder in den zu denselben führenden Leitungen mit den beiden Krankheitshefenarten in Berührung gelangt. Wir müssen uns indes wohl erinnern, dafs es aufser diesen noch eine grofse Anzahl anderer Mikroorganismen gibt, welche ebenso gefährliche Störungen hervorrufen können. Eine sorgfältige Reinigung der in den Lagerkeller führenden Leitungen sowie ein häufiges Pichen der Lagerfässer ist und bleibt daher immer von gröfster Wichtigkeit.

Wenn die Infektion nicht stark war, hatte sie keinen Einfluſs auf gutes, auf Flaschen abgezogenes Lagerbier. Von Sacch. Pastorianus III konnten sogar verhältnismäfsig sehr grofse Hefenmengen dem Biere zugegeben werden, ohne dafs irgend eine Krankheit dadurch herbeigeführt wurde. Die Zugabe eines Tropfens dünnflüssiger Hefe der andern

Art zu 350 ccm Lagerbier bewirkte eine schwache Hefentrübung, aber nur, wenn die Hefe aus jungen, kräftigen Zellen bestand.

Die Hauptregel ist die, dafs die beiden Arten am Beginne der Hauptgärung, und eigentlich nur in diesem Stadium, gefährlich sind. In allen Fällen hat Sacch. ellipsoïdeus II sich als die kräftigere der beiden Hefen erwiesen. Von den Schwankungen, welche dieselbe Infektion in ihren Wirkungen zeigen kann, wurde in der vorhergehenden Darstellung gesprochen.

In den letzten Jahren sind diese Arten auch von Lasche in Chicago und von Kokosinski in Lille beobachtet worden. Diese Forscher haben nachgewiesen, dafs sie in nordamerikanischen und französischen untergärigen Bieren in ähnlicher unheilbringender Weise auftreten, wie in den dänischen und deutschen. In einem der folgenden Abschnitte werden wir mit anderen Arten, welche gleichfalls Hefentrübung im Biere erregen, Bekanntschaft machen. Die beiden hier besprochenen betrachte ich indes als besonders gefährlich in dieser Hinsicht; namentlich gilt dieses von Sacch. ellipsoïdeus II.

Saccharomyces exiguus.

Der oben gegebenen historischen Darstellung entnehmen wir, dafs man in den nächsten Jahren nach der Erscheinung von Reess' Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze geneigt war, dem Saccharomyces exiguus die Schuld für Störungen beizumessen, welche in der Gärung eintreten konnten, wenn das Bier nicht klären wollte, wenn es nach der Lagerung hefentrüb wurde oder einen unangenehmen Geschmack annahm. Versuche stellte man, wie gesagt, keine an, sondern begnügte sich mit einer einfachen mikroskopischen Untersuchung. Die kleinen Hefenzellen, welche man in solchem schlechten Biere auffinden konnte, wurden als der Reess'schen Art Sacch. exiguus angehörig bestimmt, und diesem Mikroorganismus wurde somit die Schuld einer ganzen Reihe verschiedener Kalamitäten zugeschrieben. Man wufste damals noch nicht, dafs eine jede Saccharomyces-Art Zellen entwickeln kann, welche zu der genannten, von Reess aufgestellten Art gerechnet werden können.

Will man bei dem Wissen, welches wir jetzt besitzen, diesen systematischen Namen noch immer anwenden, so mufs derselbe zunächst an die Art, welche ich in meinen „Untersuchungen über das Verhalten der Alkoholgärungspilze gegenüber den Zuckerarten" besprochen habe (Mitteilungen des Carlsberger Laboratoriums, Bd. II, H. 5. 1888), geknüpft werden. Mit dieser Art stellte ich einige Versuche an, von denen die hier folgenden als Beispiele mitgeteilt werden.

I. Versuchsreihe. — Drei in dem Gärkeller der Brauerei Alt-Carlsberg aufgestellte Bottiche, A, B und C, wurden mit je einer Tonne (1½ hl)

Lagerbierwürze, 14,3 % Ball. beschickt. Die Bottiche waren die im vorigen Abschnitte erwähnten hölzernen Gärungsbottiche.

A wurde mit 400 g von Carlsberger Unterhefe Nr. 2 versetzt
B „ „ 350 „ „ „ „ „ „ und
75 „ Sacch. exiguus versetzt
C „ „ 400 „ Carlsberger Unterhefe Nr. 2 „

Die Hefe bestand in allen Fällen aus jungen, kräftigen, bei ca. 10° C. erzeugten Vegetationen und war ziemlich dickflüssig. Der Wärmegrad der Würze beim Anstellen der Hefe betrug 7½° C., der des Gärungskellers während des ganzen Versuches 8—9° C.

Nach sieben Tagen betrug die Extraktmenge in A 7,37; in B 7,45 und in C 7,21% Ball. Die Klärung war in allen drei Bottichen eine gute, auch Geruch und Geschmack des Bieres waren tadellos und in allen Bottichen gleich.

Das jedem Bottiche entstammende Bier wurde auf zwei gleich grofse Fässer geschlaucht, das eine Fafs mit Bier aus C mit 15 g, das andere mit 30 g dickflüssiger Hefe von Sacch. exiguus beschickt. Hierauf wurden sämtliche Fässer gespundet und in einen Lagerkeller, dessen Temperatur ½—2½° C. betrug, gelegt.

Nach dreimonatlicher Lagerung wurden von jedem Fasse auf die im vorigen Kapitel angegebene Weise einige Flaschen Bier abgezogen und in einem dunklen Schranke bei gewöhnlicher Zimmertemperatur aufbewahrt. Das Bier war in allen Fällen gleich nach dem Abziehen vollständig klar und hatte einen guten Geschmack und guten Geruch. Nach 15tägigem Stehen war das aus A, B und C stammende Bier noch immer gleich und in jeder Beziehung tadellos.

II. Versuchsreihe. — Das Verfahren war das gleiche wie bei der vorigen Versuchsreihe: Es kamen sechs Bottiche, A, B, C, D, E, F zur Anwendung.

A wurde mit 400 g Carlsberger Unterhefe Nr. 1 beschickt
B „ „ 400 „ „ „ „ 2 „
C „ „ 350 „ „ „ „ 1 und
50 „ Sacch. exiguus beschickt
D „ „ 350 „ Carlsberger Unterhefe „ 2 und
50 „ Sacch. exiguus beschickt
E „ „ 400 „ Carlsberger Unterhefe „ 1 „
F „ „ 400 „ „ „ „ 2 „

Der Extraktgehalt der Würze betrug 13,9% Ball., ihre Temperatur bei der Zugabe der Hefe 7° C.

Die Hauptgärung wurde nach zehn Tagen abgeschlossen; nach Ablauf dieser Zeit wurden in A 6,80; in B 7,78; in C 7,13; in D 7,70; in E 6,72 und in F 7,86% Ball. gefunden. Die Klärung war in allen Fällen gut, am besten in B und F. Geruch und Geschmack des Bieres waren in allen Bottichen wesentlich gleich. Das aus E stammende Bier wurde ebenso wie bei dem ersten Versuche mit 75 g von Sacch. exiguus, und das aus F stammende ebenfalls mit einer gleichen Portion derselben Hefenart versetzt.

Nach kaum zweimonatlicher Lagerung enthielt A 5,74; B 6,72; C 5,90; D 6,56; E 5,74 und F 6,64% Ball. Das jetzt vollständig klare Bier, wurde

wie oben beschrieben auf Flaschen gezogen, und hatte nach 11tägigem Stehen nur einen sehr geringen Bodensatz gebildet. In dieser Hinsicht war kein Unterschied zwischen dem mit Sacch. exiguus infizierten und dem nicht infizierten Biere vorhanden. Sämtliche Bierproben hatten guten Geruch und guten Geschmack; nach 14 Tagen waren noch keine Anzeichen von Krankheit zu erkennen.

Nach dreimonatlicher Lagerung betrug der Extraktgehalt in A 5,74; in B 6,39; in C 5,82; in D 6,39; in E 5,74 und in F 6,31% Ball. Das Bier hatte in allen Fällen seine vollständige Klarheit, sowie seinen guten Geschmack und guten Geruch bewahrt. Nach 14tägigem Stehen auf Flaschen unter den vorerwähnten Verhältnissen wurde kein Anzeichen der Hefentrübung oder sonst irgend eine Krankheit gefunden.

Bei den beschriebenen Versuchen wurde in einigen Fällen Sacch. exiguus zusammen mit der normalen Anstellhefe, zu Anfang der Hauptgärung, der Würze zugegeben, in anderen dagegen erst am Schlusse der Hauptgärung, beim Beginne der Lagerung. Aufser diesen unternahm ich auch einige Infektionsversuche mit der genannten Hefenart auf die Weise, dafs letztere erst am Schlusse der Lagerung dem Biere zugegeben wurde. Das Verfahren war das gleiche, wie bei den entsprechenden, im vorigen Kapitel beschriebenen Versuchen mit Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoïdeus II. Ich verwendete hiezu teils eine junge, kräftige Vegetation, die in Kolben mit Würze erzeugt war, teils Fafsgeläger, das am Schlusse der Lagerung dem in den beiden soeben beschriebenen Versuchsreihen dargestellten Biere entnommen war, und teils auch Hefenbodensatz, der sich in Flaschen mit gewöhnlichem Lagerbier gebildet hatte, welches mit Sacch. exiguus infiziert worden war und danach eine Zeit lang im Zimmer gestanden hatte; um die Vermehrung zu beschleunigen waren diese Flaschen häufig umgeschüttelt worden. Die so auf verschiedene Weise erzeugte Hefe wurde in dünnflüssigem Zustande verwendet; in einigen Versuchsreihen wurden 2, in anderen 3 Tropfen jeder der zur Prüfung angeordneten Flaschen mit Lagerbier zugegeben. Trotz der bedeutenden Infektion war doch eine Wirkung nicht wahrzunehmen; nach 14tägigem Stehen zeigte nämlich noch keine der Flaschen ein Anzeichen von Hefentrübung.

Hauptresultat. — Aus den soeben beschriebenen Versuchen geht also hervor, dafs sogar eine starke Zugabe von Sacch. exiguus am Anfange der Hauptgärung, am Schlusse derselben oder am Schlusse der Lagerung keine Krankheitserscheinungen im Lagerbier hervorruft. Da die Versuche durchaus unter den im Betriebe obwaltenden Verhältnissen ausgeführt wurden, so können die Resultate auch mit voller Giltigkeit auf die Praxis übertragen werden.

Es ist nicht möglich, zu entscheiden, was es eigentlich für Hefenzellen gewesen sind, an welche man in der Periode, in welcher Sacch.

exiguus eine so grofse Rolle in der zymotechnischen Literatur spielte, gedacht hat. Seitdem man begonnen hat, die Frage betreffs durch Alkoholgärungspilze hervorgerufener Bierkrankheiten einer experimentellen Behandlung zu unterziehen, ist von dieser Hefenart nicht mehr die Rede gewesen. Die Möglichkeit ist allerdings nicht ausgeschlossen, dafs man dereinst eine Krankheitshefenart mit kleinen Zellen, welche man mit ein wenig gutem Willen zu der alten Reess'schen Art Sacch. exiguus wird rechnen können, entdecken wird; allein für den Augenblick ist dieses Schreckbild aus dem Gebiete der Zymotechnik verschwunden.

Aufser dem hier von mir besprochenen Sacch. exiguus gibt es, wie ich schon bei andern Gelegenheiten hervorgehoben habe, auch noch mehrere andere wilde Hefenarten, welche zwar eine üppige Vegetation in Bierwürze entwickeln können, aber doch keine Krankheit im Biere erregen. Das Gleiche gilt auch von mehreren Bakterien.

Meine oben beschriebenen Versuche wurden nur mit Rücksicht auf die dabei gestellten praktischen Fragen ausgeführt, und von dieser Seite gesehen, stellte sich also heraus, dafs eine Zugabe von Sacch. exiguus keinen Einflufs hatte. Wenn wir von theoretischen Gesichtspunkten aus dieses Konkurrenzverhältnis in seinen Einzelheiten verfolgen wollen, so werden wir gleichwohl finden, dafs die Wirkung von Sacch. exiguus nicht ganz spurlos gewesen ist. Bei mehreren der Versuche machte ich z. B. die Wahrnehmung, dafs eine stärkere Zugabe dieser Art eine Verlangsamung der Attenuation in den ersten Stadien der Gärung bewirke gegenüber dem Fortschreiten der Attenuation bei alleiniger Anwesenheit von Brauereihefenarten.

Unangenehmer Geruch und Geschmack des Bieres durch Sacch. Pastorianus I hervorgerufen.

Das in dieser Überschrift angegebene Hauptresultat teilte ich im Jahre 1884 in wenigen Zeilen in der „Zeitschrift für das ges. Brauwesen" mit, indem ich versprach, später ausführlichere Rechenschaft meiner Untersuchungen abzulegen. Dieses wird nun im Nachfolgenden neben Anführung neuer Versuche geschehen.

In der erwähnten vorläufigen Mitteilung bemerkte ich, dafs das Bier auf Alt-Carlsberg im Jahre 1883 von einer Krankheit befallen war, welche darin bestand, dafs es einen unangenehmen, bitteren Geschmack und üblen Geruch annahm. Einige Bierkenner bezeichneten diesen Geschmack und Geruch zugleich als rauchartig; alle waren darüber einig, dafs das Bier Schaden gelitten hatte. Durch Zerlegen der Hefe in ihre Bestandteile gelang es mir, vier Saccharomycesarten daraus auszuscheiden. Bei den Versuchen, welche ich darauf mit denselben in mit Würze gefüllten Kolben unternahm, gab nur eine von ihnen Bier mit gutem Geschmack und gutem Geruch; es war dies die Art, welche ich mit dem

Namen Carlsberger Unterhefe Nr. 1 bezeichnet habe, und welche seit dieser Zeit in grofsem Mafsstabe in skandinavischen Brauereien zu Anwendung gelangt. Unter den anderen Hefen fand sich die Art, welche ich Sacch. Pastorianus I genannt habe. Nur wenn diese in der Anstellhefe vorhanden war, erschien die Krankheit. Wie überzeugend solche, im Laboratorium angestellte Versuche auch sein mögen, so kommt ihnen doch nicht die Beweiskraft zu, welche diejenigen besitzen, welche in der Brauerei selbst unter den daselbst herrschenden Verhältnissen ausgeführt werden; im Folgenden werden defshalb nur diese letzteren beschrieben.

I. Versuchsreihe. — Drei der vorerwähnten kleinen Gärbottiche, C, D, E, wurden im Gärkeller der Brauerei Alt-Carlsberg aufgestellt und mit je 1 Tonne (1½ hl) gewöhnlicher, gelüfteter Lagerbierwürze von 13,3% Ball. versehen. Die Temperatur der Würze bei der Zugabe der Hefe betrug 7,8° C., die des Kellers 5—6° C.

C wurde mit 500 g von Sacch. Pastorianus I beschickt;
D „ „ 400 „ „ Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und
100 „ „ Sacch. Pastorianus I beschickt;
E „ „ 500 „ „ Carlsberger Unterhefe Nr. 1 beschickt.

Die Hefe war in allen Fällen dickflüfsig und in einer der vorerwähnten gleichen Würze, bei 8—10° C., erzeugt.

Nach 11 Tagen wurden in C 6,03; in D 5,54; in E 6,27% Ball. gefunden. Hierauf wurde das Bier aus jedem Bottich auf drei kleine Fässer gezogen und in den Lagerkeller gelegt, dessen Temperatur 2—3° C. betrug. C und D hatten unangenehmen Geruch und bitteren, unangenehmen Geschmack, E dagegen guten Geruch und Geschmack; der bittere Geschmack trat am stärksten in C hervor. Trotzdem eine starke Vergärung stattgefunden hatte, blieb die Klärung in C und D schlecht; in E dagegen war sie tadellos.

Nach ungefähr einmonatlicher Lagerung wurden aus der einen Reihe der Fässer Proben in gewöhnlicher Weise in weifsen Halbflaschen entnommen. C war vollständig trübe, D beinahe und E vollständig klar. Schon nach 5tägigem Stehen bei gewöhnlicher Zimmerwärme war D schwach hefentrüb, während E nach 12 Tagen noch keine diesbezüglichen Erscheinungen zeigte. Das Bier, an dessen Gärung Sacch. Pastorianus I teilgenommen hatte, zeigte den oben angegebenen unangenehmen Geschmack und Geruch in hohem Grade, während das entsprechende ausschliefslich mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1 hergestellte Bier den gleichen guten Geschmack und Geruch wie das gewöhnliche Lagerbier von Alt-Carlsberg aufwies.

Nachdem das Bier ein wenig über zwei Monate im Lagerkeller verbracht hatte, waren D und E vollständig klar, C dagegen noch hefentrüb. In C wurden 5,54; in D 5,37; in E 5,29% Ball. gefunden. Hinsichtlich des Geschmackes und Geruchs war noch derselbe Unterschied vorhanden wie früher. Das aus D stammende Bier war nun auch haltbar geworden; ebenso wie das aus E genommene stand es 21 Tage auf Flaschen im Zimmer, ohne dafs Anzeichen der Hefentrübung bemerkt wurden.

Nach 5monatlicher Lagerung hatte das aus D stammende Bier noch immer in hohem Grade den unangenehmen, bitteren Geschmack. Das aus C stammende Bier war zu dieser Zeit noch nicht klar; die Klärung wurde erst erzielt, nachdem es sechs Monate im Lagerkeller verbracht hatte; der Geschmack war noch immer gleich ekelhaft wie früher.

Zu demselben Hauptresultat gelangt man, wenn man die Versuche mit einem Gemische von Sacch. Pastorianus I und einer anderen Brauereihefenart als Carlsberger Unterhefe Nr. 1 ausführt.

Die erwähnte Krankheit trat also stark hervor, wenn $^1/_5$ der Anstellhefe aus Sacch. Pastorianus I bestand. Bei einem Versuche, den ich mit Hilfe grofser Pasteur'scher Bottiche, die mit je $1\,^1/_3$ hl gelüfteter Würze derselben Beschaffenheit wie die vorerwähnte versehen waren, anstellte, zeigte es sich indefs, dafs die Krankheit auch dann eintrat, wenn nur $^1/_{11}$ der Stellhefe aus der genannten Krankheitshefenart besteht. Dieser Versuch wurde jedoch nicht ganz unter Brauereiverhältnissen angestellt, und ich werde defshalb nicht länger dabei verweilen, sondern zur Beschreibung der folgenden Versuche übergehen.

II. Versuchsreihe. — Diese wurde auf dieselbe Weise wie die erste und in dem nämlichen Gärkeller ausgeführt. Die Würze enthielt in diesem Falle 13,9 % Ball.; ihre Temperatur bei der Hefenzugabe betrug 7° C.

A wurde mit 400 g Carlsberger Unterhefe Nr. 1 versetzt
E „ „ 380 „ „ „ „ „ und
18 „ Sacch. Pastorianus I versetzt
F „ „ 380 „ Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und
18 „ von einer Varietät des Sacch. Pastorianus I[1]) versetzt.

In E und F betrug die Krankheitshefe also $^1/_{22}$ der ganzen Anstellhefe.

Nach 10 Tagen wurden in A 6,80; in E 7,37; in F 7,86 % Ball. gefunden. Die Klärung in A war gut, in E und F nur ziemlich gut. Bezüglich des Geschmackes und Geruches war kein hervortretender Unterschied bei den Bieren in den drei Bottichen bemerkbar.

Nachdem das Bier ungefähr zwei Monate im Lagerkeller verbracht hatte, wurden in A 5,74; in E 6,15 und in F 6,23 % Ball. gefunden; das Bier war in allen Fällen klar. A hatte den gewöhnlichen guten Geschmack und Geruch, E und F dagegen unangenehmen Geruch und bit-

[1]) Mit einer typischen Vegetation von Sacch. Pastorianus I als Ausgangspunkt habe ich durch eine bestimmte Züchtungsweise eine ganz neue Form dargestellt, die ich vorläufig als eine Varietät bezeichnet habe. Dieselbe zeichnet sich namentlich dadurch aus, dafs sie das Vermögen, Sporen und Haut zu bilden, vollständig verloren hat. Eine Übersicht der Resultate, welche meine Studien über die Umbildung der Hefenarten bis 1890 gebracht hatten, findet sich in dem Kapitel „Über die Variation" in meinen „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie", I. H. Zweite Ausg. Von den später erreichten Resultaten, welche ein praktisches Interesse haben, kann hier mitgeteilt werden, dafs die Knospenbildung der Varietäten eine ergiebigere ist als die der Stammformen.

teren unangenehmen Geschmack, jedoch nur in sehr geringem Grade.

Diese Probe wurde gleich nach dem Abziehen vorgenommen, wie gewöhnlich von mehreren Personen, und zwar von Bierkennern. Nachdem das Bier einige Tage im Zimmer auf Flaschen gestanden hatte, wurde die Probe wiederholt; der Unterschied schien jetzt noch weniger hervorzutreten. Es war überhaupt nur durch einen Vergleich mit dem nicht infizierten Biere möglich, diejenigen Flaschen ausfindig zu machen, welche Bier, das teilweise mit Sacch. Pastorianus I und deren Varität vergoren war, enthielten. Nach 6tägigem Stehen wurde in den mit dem aus E und F entstammenden Biere beschickten Flaschen ein ziemlich starker Bodensatz von Hefe gefunden; durch Schütteln wurde dieses Bier hefentrüb. Das aus A stammende Bier war dagegen haltbar.

Neue Proben wurden nach 3 monatlicher Lagerung genommen; A enthielt jetzt 5,74; E und F 5,9 % Ball. Das Bier war in allen Fällen klar. Betreffs des Geschmackes und Geruchs wurden dieselben Beobachtungen wie vorhin gemacht. Nach 14tägigem Stehen auf Flaschen im Dunkeln bei gewöhnlicher Zimmertemperatur wurde in A noch kein bemerkbarer Bodensatz und beim Schütteln kein Anzeichen einer Hefentrübung gefunden. In dem aus E und F stammenden Biere hatte sich dagegen ein deutlicher Hefebodensatz entwickelt, welcher beim Schütteln eine schwache Hefentrübung der Flüssigkeit verursachte.

Der unangenehme Geschmack und Geruch zeigte sich also auch in diesem Falle, obwohl in sehr geringem Grade. Wir haben oben gesehen, dafs diese Krankheitserscheinungen sich dagegen, bei Vorhandensein gröfserer Mengen von Sacch. Pastorianus I in der Stellhefe, in hohem Grade zu erkennen geben. Dafs dieses auch von der Varietät desselben Saccharomyceten gilt, davon wurde ich durch direkte Versuche überzeugt.

Bei den beschriebenen Versuchen wurde die Krankheitshefe am Beginn der Hauptgärung der Würze zugegeben; die nachfolgenden Versuche wurden dagegen vorgenommen, um zu erfahren, wie sich die Verhältnisse gestalten, wenn die Infektion erst am Schlusse der Hauptgärung erfolgt.

III. Versuchsreihe. — Nach Schlufs der Hauptgärung in der oben beschriebenen I. Versuchsreihe und nach Abziehen des Bieres aus den Gärbottichen auf die kleinen Lagerfässer, wurden aus jedem der Bottiche C, D und E 20 ccm der Bodensatzhefe entnommen und in je eine Achteltonne (ca. 17 l) übergeführt, welche mit gärender Lagerbier-Würze in dem Stadium, wo dieselbe nach beendeter Hauptgärung in den Lagerkeller gebracht wird, gefüllt war. Diese kleinen Lagerfässer wurden übrigens auf die in den vorhergehenden Kapiteln beschriebene Weise behandelt und nebst einem mit nicht infiziertem Biere gefüllten Kontrollfasse in den ofterwähnten Lagerkeller, dessen Temperatur 3—6° C. betrug, gelegt. Wenn man sich erinnert, dafs das Gewicht dickflüssiger Hefe, wie sie wenigstens in den Kopenhagener Brauereien allgemein als Anstellhefe verwendet wird, 4 g per l Würze beträgt, so wird es ersichtlich,

dafs die erwähnte Infektion eine sehr starke war. C enthielt, wie oben bemerkt, ausschliefslich Sacch. Pastorianus I, D eine Mischung dieser Krankheitshefenart und der Carlsberger Unterhefe Nr. 1, und E nur die letztgenannte Brauereihefenart; in allen Fällen hatten sie, wie angeführt, eine Hauptgärung im Gärkeller durchgemacht. Die Verhältnisse kamen also den in der Praxis bestehenden gleich.

Nachdem dieses Bier 2¼ Monat im Lagerkeller zugebracht hatte, wurden von jedem Fasse eine gröfsere Anzahl Flaschen auf die oben beschriebene Weise abgezogen. Das Bier war in allen Fällen vollständig klar, ohne Bodensatz.

Die Bierkenner, welche die Geschmacksprobe vornahmen, waren durchgehends geneigt, den Inhalt aller Fässer für tadellos zu erklären; nur in den aus C stammenden Flaschen, in denen die ganze Menge der Infektion aus Sacch. Pastorianus I bestand, fanden die meisten eine Spur des unangenehmen bitteren Geschmackes. Die Infektion hatte also in dieser Beziehung wenig oder gar keine Wirkung gehabt; dasselbe gilt von der Haltbarkeit des Bieres. Nach 21 stündigem Stehen der Flaschen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur zeigte noch keine derselben Anzeichen von Hefentrübung.

IV. Versuchsreihe. — Das Verfahren war das gleiche wie bei der vorigen Versuchsreihe. Das Bier war von derselben Beschaffenheit und befand sich in demselben Stadium der Gärung, am Beginne der Lagerung. Hier wurde jedoch jede Achteltonne mit 10 ccm ziemlich dünnflüssiger Hefe aus einer durch 24stündige Kultur in Würze erzeugten kräftigen Vegetation von Sacch. Pastorianus I versetzt. Die Temperatur des Lagerkellers betrug 2,5° C.

Nach ungefähr 3 monatlicher Lagerung war sowohl das infizierte wie das nicht infizierte Bier klar und ohne Bodensatz, nachdem es auf die Flaschen abgezogen war; Geschmack und Geruch war in beiden Fällen gut. Auch mit Bezug auf die Haltbarkeit liefs sich kein Unterschied erkennen; nach 14tägigem Stehen unter den oben erwähnten Umständen war nämlich noch kein Anzeichen von Hefentrübung wahrzunehmen.

Als Beispiele der Versuche, welche zur Ermittelung der Wirkung einer erst am Schlusse der Lagerung stattfindenden Infektion vorgenommen wurden, seien die folgenden mitgeteilt.

V. Versuchsreihe. — Es wurden neun mit Lagerbier gefüllte Flaschen infiziert, 3 mit je 1 Tropfen Hefe von Sacch. Pastorianus I, 2 mit je 3 Tropfen und 4 mit je 1 ccm derselben Hefenart. Die Hefe bestand aus einer jungen, kräftigen Vegetation einer Würzekultur und war sehr dünnflüssig. Drei nicht infizierte Flaschen dienten zur Kontrolle. Im übrigen war das Verfahren wie oben.

Die mit je 1 bezw. 3 Tropfen infizierten Flaschen zeigten nach 14 Tagen noch kein Anzeichen von Hefentrübung, das in ihnen enthaltene Bier hatte auch denselben guten Geschmack und Geruch wie am Beginn des Versuches; sie verhielten sich, kurz gesagt, wie die Kontrollflaschen.

Die 4 Flaschen, welche den aufserordentlich starken Zusatz von je 1 ccm empfangen hatten, waren schon nach 4 Tagen hefentrübe; das in ihnen enthaltene Bier hatte jedoch nur einen schwachen Anflug des bitteren Geschmacks angenommen.

VI. Versuchsreihe. — Nach Abziehen des Bieres in der II. Versuchsreihe aus den Fässern, in welchen es ungefähr 2 Monate im Lagerkeller zugebracht hatte, wurden drei Lagerbier enthaltende Flaschen mit je 1 Tropfen des ziemlich dünnflüssigen Faſsgelägers in E (Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und Sacch. Pastorianus I) beschickt. In diesem Falle bestand die Hefe also aus einer Vegetation, welche sowohl die Haupt- als die Nachgärung unter Brauereiverhältnissen durchgemacht hatte. Zur Kontrolle wurden drei Flaschen mit nicht infiziertem Lagerbier hingestellt. Nach 16tägigem Stehen hatte die Infektion noch keine Wirkung gezeigt, weder in Bezug auf Geschmack und Geruch, noch auf Haltbarkeit des Bieres.

VII. Versuchsreihe. — 16 Flaschen Lagerbier wurden infiziert; drei nicht infizierte dienten zur Kontrolle. Zur Infektion wurde der Bodensatz benutzt, welcher sich im Bier, das lange Zeit in Flaschen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestanden war, gebildet hatte. Dieses Bier war in dem einen Falle mit einem Gemische von Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und Sacch. Pastorianus I, im anderen mit der genannten Brauereihefenart nebst der vorgenannten Varietät von Sacch. Pastorianus I hergestellt. Diese Hefenformen hatten nicht nur die Hauptgärung im Gärkeller und die normale Nachgärung im Lagerkeller, sondern danach auch noch eine neue Nachgärung und neue Zellenvermehrung in dem abgezogenen Bier durchgemacht. Mit jeder der beiden Hefenmischungen wurden 8 Flaschen infiziert, 3 mit je 1, 3 andere mit je 2, 1 mit 4 und 1 andere mit 8 Tropfen der Hefe in ziemlich stark verdünntem Zustande.

Die mit je 8 Tropfen beschickten Flaschen begannen nach 7 Tagen hefentrüb zu werden, die mit je 4 Tropfen beschickten zeigten diese Erscheinung nach 12 Tagen, während die mit nur 1 bezw. 2 Tropfen infizierten nach 14 Tagen in den meisten Fällen noch fehlerfrei waren, höchstens zeigten sie eine schwache Andeutung einer beginnenden Hefentrübung; kurz, sie hatten im Wesentlichen dieselbe Haltbarkeit wie die Kontrollflaschen. Hinsichtlich des Geruches und Geschmackes war kein Unterschied zwischen dem infizierten und dem nicht infizierten Biere zu erkennen.

Hauptresultat. Der unangenehme Geruch und unliebsame bittere Geschmack, welchen die in diesem Abschnitte behandelte Krankheit untergärigem Lagerbiere mitteilt, gab sich nicht nur in dem fertig gelagerten Biere, sondern auch bereits in der gärenden Würze am Ende der Hauptgärung zu erkennen. Die Versuche zeigten, dafs diese Krankheit durch Sacch. Pastorianus I und die Varietät, welche ich von dieser Hefenart dargestellt habe, verursacht wird. Die Krankheit tritt eigentlich nur dann auf, wenn die Infektion am Beginn der Hauptgärung stattfindet. In der Anstellhefe und in der in den Gärbottichen befindlichen Würze mufs man die Keime suchen. Wenn $^1/_5$ der Stellhefe aus Sacch. Pastorianus I bestand, trat die Krankheit in ausgeprägtem Grade auf; bei Verminderung der Zugabe trat sie weniger hervor und konnte, wenn diese Hefenart bezw. deren Varietät $^1/_{22}$ der ganzen Anstellhefe betrug, nur

noch eben verspürt werden. Unter den oben beschriebenen Umständen scheint die Grenze damit erreicht zu sein. Eine noch geringere Zugabe wird also kaum eine nachteilige Wirkung in der genannten Richtung haben. Bei einem mit stark infizierter Stellhefe angestellten Versuche zeigte es sich, dafs das Bier auch nach nicht weniger als fünfmonatlicher Lagerung den durch die Infektion verursachten unangenehmen Geschmack und Geruch noch fortwährend behielt.

Dafs auch das ausschliefslich mit einer Reinkultur dieser Art bezw. ihrer Varietät vergorene Bier den nämlichen unliebsamen Geschmack und Geruch annehmen mufste, war leicht vorauszusehen.

Wenn die Infektion erst in den Lagerfässern oder in den zu diesen führenden Leitungen erfolgt, so bleibt sie unter den gewöhnlichen Brauereiverhältnissen wirkungslos. Dieses zeigten die Versuche, welche teils mit jungen, kräftigen, in Würze nach eintägiger Kultur erzeugten Vegetationen, teils mit solchen Vegetationen, welche im Verein mit einer Brauereihefenart eine Hauptgärung in einem Gärbottiche in der Brauerei durchgemacht hatten, angestellt wurden. Nur bei einem Versuche, in dem eine überaus grofse Portion einer Reinkultur von Sacch. Pastorianus I dem Biere am Beginn der Lagerung zugegeben wurde, nahm das Bier einen schwachen Anflug des unangenehmen bitteren Geschmackes an.

Eine am Ende der Lagerung vorgenommene Infektion des Bieres hat in dieser Beziehung eine ebenso geringe Wirkung.

Jedoch nicht nur auf den Geschmack und Geruch, sondern auch auf die Haltbarkeit des Bieres kann Saccharomyces Pastorianus I in unheilbringender Weise einwirken. Bei den Versuchen, in denen die genannte Art in der Stellhefe zugegen war, bewirkte sie ferner eine Benachteiligung der Klärung am Ende der Hauptgärung. Schon wenn Sacch. Pastorianus I nur $^1/_{22}$ der Anstellhefe ausmachte, bewirkte er, dafs das damit hergestellte Bier nach normaler Lagerung eine bemerkbar geringere Haltbarkeit aufwies als das entsprechende, mit einer Reinkultur der Brauereihefe vergorene Bier.

Ebenso wie bei den oben beschriebenen Versuchen mit Sacch. ellipsoideus II und Sacch. Pastorianus III spielt die Vergärung und Lagerung des Bieres auch hier eine wichtige Rolle. Das stark vergorene Bier in der ersten Versuchsreihe war, nachdem es zwei Monate im Lagerkeller zugebracht hatte, vollständig haltbar, trotzdem $^1/_5$ der Anstellhefe desselben aus Sacch. Pastorianus I bestand. Wenn die Vergärung während der Hauptgärung stark ist, und das Bier darnach einer nicht zu kurzen Lagerung in einem guten Keller unterworfen wird, so wird es für gewöhnlich nach dem Abziehen nicht von Hefentrübung befallen werden. Bei reichlicherem Vorhandensein der hier besprochenen Krankheitshefenart werden, wie wir oben gesehen haben, diese Mafsregeln die Krankheits-

erreger jedoch nicht daran verhindern können, das Bier in einer anderen Weise anzugreifen, es tritt nämlich Verschlechterung des Geschmacks und Geruches ein.

Bezüglich der Wirkung, welche diese Hefenart aufweist, wurden übrigens ähnliche Schwankungen wahrgenommen, wie die im Kapitel von Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoideus II in Kürze erwähnten.

In den Fällen, in welchen die Infektion erst nach vollendeter Hauptgärung im Gärkeller, also während der Lagerung oder nach Abschluſs derselben, erfolgt, hat sie in Bezug auf die Haltbarkeit des Bieres keinen Einfluſs, wenn nicht verhältnismäſsig groſse Mengen der Krankheitshefe zugegeben werden.

Wenn auch in den Lagerfäſsern, in den zu diesen führenden Leitungen oder in den Flaschen und kleinen Fässern, in denen das Bier zum Ausstoſs gelangt, eine geringe Menge der Krankheitshefe zugegen ist, so hat dieses keine Bedeutung, weder in der einen noch in der andern Beziehung; nur am Beginn der Hauptgärung droht die Gefahr. Dieses Ergebnis stimmt also mit den Hauptresultaten, welche meine oben mitgeteilten Untersuchungen über Sacch. ellipsoideus II und Sacch. Pastorianus III ergeben haben, überein.

Die Mitteilungen, welche ich in den Jahren 1883 und 1884 über die Krankheitshefenarten herausgab, brachten diese Frage von neuem auf die Tagesordnung, und zwar in einer anderen Weise als früher. Es wurden nun in den meisten zymotechnischen Laboratorien ähnliche Versuche vorgenommen, wie die in meinen soeben genannten Mitteilungen beschriebenen. Es begann auf diesem Gebiete die Zeit der Experimente.

Bei meinen ersten Studien beschränkte ich mich darauf, die Wirkung einer im Beginn der Hauptgärung stattfindenden Infektion zu untersuchen, während ich die übrigen Stadien der Gärung vorläufig auſser Betracht lieſs. Das gleiche Verfahren haben die Autoren befolgt, welche sich später mit Studien über das Verhältnis der Alkoholgärungspilze zu den Krankheiten des Bieres beschäftigt haben. Eine Übersicht der Resultate, welche diese Arbeiten gebracht haben, wird hier von Interesse sein und soll daher im folgenden mitgeteilt werden.

Im Jahre 1887 veröffentlichte Grönlund eine ausführliche Untersuchung über ähnliche Krankheitserscheinungen wie die eben erwähnten (Zeitschr. für das ges. Brauwesen). Er teilte mit, daſs in einer dänischen Untergärungs-Brauerei das sonst haltbare und wohlschmeckende Bier in dieser letzteren Beziehung Schaden gelitten habe. Das Bier sei jetzt nicht nur bitter geworden, sondern hinterlasse ausserdem nach dem Trinken einen höchst unangenehmen, beiſsenden und adstringierenden Geschmack. In diesem kranken Biere fand er eine Hefenart, welche

alle von mir für meinen Sacch. Pastorianus I aufgestellten Charaktere besafs, wesshalb er dieselbe als eben diese Art bestimmte. Durch direkte Versuche wies er ferner nach, dafs sie die Krankheitserregerin war.

Die später von Kokosinski in Lille und von Lasche in Chicago angestellten Untersuchungen bestätigen ebenfalls die Richtigkeit meiner Versuche.

Hierdurch wird uns nicht nur gelehrt, dafs Sacch. Pastorianus I in den Brauereien sehr verbreitet ist, sondern auch, dafs diese Art unter so verschiedenen Verhältnissen, wie die in den Brauereien der genannten Länder obwaltenden, dennoch die gedachte, allgemein gefürchtete Krankheit hervorruft.

In den „Berichten der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München, pro 1885—88" und in der „Zeitschrift für das ges. Brauwesen" 1891 teilt Will eine Reihe eingehender Untersuchungen mit, welche er mit zwei neuen Saccharomyces-Arten angestellt hat. Eine von diesen bewirkte, dafs untergäriges Bier einen eigentümlichen, süfslichen Geschmack mit einem kratzenden, bitteren Nachgeschmack annahm, und dafs die Klärung während der Nachgärung langsamer vor sich ging, als wenn das Bier von diesen Zellen frei war. Die Wirkung der anderen Art war der Hauptsache nach die gleiche. Beide gehören zu den für die Fabrikation untergäriger Biere gefährlichen Arten.

Auch von der Brauereistation in New-York liegen in der jüngsten Zeit Mitteilungen von Krieger vor, betreffend wilde Hefenarten, welche eine Verringerung der Haltbarkeit und zugleich einen üblen Geschmack des Bieres bewirken.

In der „Wochenschrift für Brauerei" 1889 beschreibt Windisch einige mit verschiedenen Brauereihefearten und mit einer nicht näher beschriebenen Art der Gruppe Sacch. Pastorianus ausgeführte Gärversuche. Sie wurden in mit sterilisierter Bierwürze gefüllten Kolben ausgeführt. Das mit der letztgenannten wilden Hefenart dargestellte Bier wurde nicht blank und hatte einen unangenehmen, bitteren Geschmack mit kratzendem Nachgeschmack.

Im Jahrgang 1891 der nämlichen Zeitschrift teilt P. Lindner mit, dafs er eine einer Brauerei-Unterhefe in hohem Grade gleichkommende Hefenart beobachtet habe Nach dem Aussehen der Gärung, nach der Klärung und der Beschaffenheit der Bodensatzhefe würde der praktische Brauer sie als eine vorzügliche Unterhefe auffassen, allein dessenungeachtet bringe sie ein Bier mit abscheulichem, bitterem und kratzendem Geschmacke hervor. Diese gefährliche Hefenart hatte sich in eine der Brauereien Berlins eingeschlichen und sich hier allgemach derart in der Anstellhefe ausgebreitet, dafs das Bier bald den genannten garstigen Geschmack anzunehmen begann. Es ist dieses nicht nur ein neues Beispiel von der Mannigfaltigkeit und Gefährlichkeit der

Krankheitshefenarten, sondern auch von der Geringfügigkeit und Unsicherheit der Kennzeichen, nach welchen die Brauer früher ausschliefslich und leider noch immer in allzu grofsem Mafsstabe den Gang und Zustand der Gärung beurteilen.

Auch Lasche hat neue Krankheitshefenarten beobachtet. Eine Beschreibung derselben ist in der Zeitschrift der Chicago-Station zu erwarten.

Die vorhergehenden Untersuchungen beziehen sich sämtlich auf das untergärige Bier. Wenn man aber die englische Brauereiliteratur der letzten Jahre durchgeht, so findet man daselbst mehrere Beobachtungen, welche darauf hinweisen, dafs die wilden Hefenarten ebenso grofse Störungen in den Obergärungs- wie in den Untergärungs-Brauereien hervorrufen können. Von De Bavay in Melbourne liegt eine experimentelle Untersuchung vor, welche zeigt, dafs diejenige Bierkrankheit, welche in Australien „summer-cloud" genannt wird, durch einen Saccharomyces verursacht wird (The Brewers' Journal, London 1889, p. 490). Das von dieser wilden Hefenart angegriffene obergärige Bier wird unklar und nimmt einen säuerlichen, bitteren Geschmack an. Diese Krankheit wird als eine der gröfsten Fatalitäten in den Brauereien jenes Weltteils erwähnt.

Woher kommen die Krankheitshefen?

Bei Untersuchungen, wie die vorliegenden, wird uns nicht nur die Aufgabe gestellt, die Ursachen der Krankheiten zu erforschen, sondern wir stellen gleich darauf neue Fragen: Woran können wir die Krankheitskeime erkennen? Wo haben sie ihre Herde? und wie schleichen sie sich in den Betrieb?

Über die Charaktere, durch welche die Krankheitshefenarten von den guten Brauereihefenarten unterschieden werden können, habe ich in meinen obengenannnten theoretischen Untersuchungen Aufschlüsse gegeben. Die wichtige Frage nach den Herden können wir leider noch nicht vollständig beantworten. Ich teile hier in der Kürze Alles mit, was wir für den Augenblick davon wissen.

Im Jahre 1881 veröffentlichte ich in der Zeitschrift des Carlsberger Laboratoriums eine Abhandlung über Saccharomyces apiculatus und dessen Kreislauf in der Natur. Meine Untersuchungen zeigten nicht nur, dafs dieser Pilz auf reifen, süssen, saftigen Früchten sich findet, sondern gaben auch noch die wichtigere Aufklärung, dafs diese Früchte seinen normalen Entwickelungsherd bilden. Je nach der Zunahme der Früchte genannter Art im Garten werden zahlreiche Generationen der Zellen dieses Pilzes erzeugt, und nun wird auch der Staub der Luft immer reicher an denselben. Sacch. apiculatus wird regelmäfsig zuerst auf den am frühesten

reifen süfsen, saftigen Früchten, nachher auf den später reifenden beobachtet. Im Carlsberger Garten beginnt er so die Saison mit den Erdbeeren, Stachelbeeren und Kirschen und schliefst dieselbe mit den Pflaumen und Weintrauben. Mit dem Regen und mit herabfallenden Früchten wird er in die Erde gebracht. An trockenen Tagen wird er mit dem Staub der Erde wieder in die Luft geführt, und die Zellen, welche jetzt auf den genannten Früchten sich ablagern und hier zu deren Saft Zutritt gewinnen, können nun durch Sprofsbildung neue Generationen entwickeln. Dieses alles kann sich im Laufe des Sommers mehrmals wiederholen, so dafs Sacch. apiculatus bald von den Früchten in die Erde und bald wieder von hier zu den Brutstätten zurückwandert. Er überwintert in der Erde, um nächsten Sommer denselben Kreislauf von neuem zu beginnen. Von selbst kann er seinen Winteraufenthaltsort nicht verlassen, sondern ist dazu der Hilfe bedürftig; in trockenen Perioden wird er vom Winde mit dem Staub der Erde in die Höhe gewirbelt; von dem Regen kann er auf niedrige Pflanzen, z. B. Erdbeerpflanzen, gepeitscht werden; auch Insekten und andere Tierchen können hierbei eine Rolle spielen. Kommt er nun an einen Ort, wo er Nahrung findet, so beginnt er die Sprofsbildung; sonst wird er bald vertrocknen und zu Grunde gehen.

In einer kleinen Abhandlung, welche ich 1882 in der dänischen Zeitschrift „Tidsskrift for populäre Fremstillinger af Naturvidenskaben" veröffentlichte, teilte ich die Resultate der Untersuchungen mit, welche ich in der Zwischenzeit über den Anteil, welchen die Bienen, Wespen und Fliegen an der Verbreitung des kleinen Hefenpilzes nehmen, angestellt hatte. Ich hob hervor, dafs Sacch. apiculatus in der Fruchtzeit, vornehmlich durch Hilfe dieser Insekten, in lebendigem Zustande nach von den ursprünglichen Brutstätten weit entfernt gelegenen Punkten geführt wird. Wenn die genannten Insekten mit den Säften, in denen Sacch. apiculatus sich entwickelt hat, in Berührung kommen, werden oft grofse Mengen von Hefe an der Haarbekleidung der Tierchen kleben bleiben und hier langsam eintrocknen. Die Zellen können, wie meine Versuche es bewiesen haben, auf diese Weise ihr Leben längere Zeit bewahren, als wenn sie im Staube der Luft vereinzelt umher zerstreut werden. Im letzten Falle wird nämlich das Vertrocknen als Regel eine stärkere Wirkung ausüben.

Dies waren die Resultate meiner obenerwähnten Studien. Die süfsen, saftigen Früchte des Gartens stellten sich als die normalen Entwickelungsherde des kleinen Hefenpilzes heraus, die Erde als sein normaler Winteraufenthaltsort[1]).

[1]) Neue Untersuchungen über Sacch. apiculatus habe ich in „Botanisches Centralblatt" Bd. 21, Nr. 6, 1885, in „Annales des sciences naturelles. Botanique", T. 11, Nr. 3, 1890, und in „Annales de micrographie", 1890 veröffentlicht.

Meine Versuche haben also dargethan, dafs Insekten und andere kleine Tiere zwar bei der Verbreitung der Zellen dieser Hefenart thätig sind, dafs aber auch der Wind in dieser Beziehung eine hochwichtige Rolle spielt. Dieses letztere Transportmittel beansprucht besonders die Aufmerksamkeit der Brauereien, wenn von Mikroorganismen die Rede ist.

Sacch. apiculatus ist bis jetzt die einzige Hefenart, deren Kreislauf in der Natur bekannt ist. Meine Versuche, auch mit Rücksicht auf die eigentlichen Saccharomyceten (Hefenzellen mit Endosporenbildung, welche, wie man sich erinnern wird, dem Sacch. apiculatus abgeht) diese Frage ins Klare zu bringen, haben bisher noch nicht zum Ziele geführt. Unser Wissen über die für die Gärungsindustrie wichtigsten Arten ist in dieser Hinsicht noch immer mangelhaft.

Die Forscher, welche zuerst die Hefenzellen zu studieren begannen, beobachteten bereits, dafs dieselben auf den süfsen, saftigen Früchten, besonders auf beschädigten, sich vorfinden, und dafs sie sich hierselbst vermehren. Meine zahlreichen Untersuchungen haben ebenfalls die Allgemeinheit dieses Vorkommens bestätigt; insbesondere die herabfallenden Früchte bilden üppige Entwickelungsherde.

Bezüglich der Weinhefenpilze geht die Ansicht Pasteur's dahin, dafs dieselben nicht in der Erde überwintern. Im Gegensatze zu dieser Meinung stehen meine Untersuchungen. Ich habe nämlich diese Pilzarten an mehreren Orten Deutschlands in lebendigem Zustande in der Erde unter den Weinreben gefunden, sowohl in den Frühlings-, als in den Sommermonaten, also zu einer Zeit, wo es noch keine reifen Trauben gab.

Es ist sehr wahrscheinlich, dafs die von mir beobachteten Hefenzellen im vorhergehenden Herbste, als die Trauben reif waren, und die beschädigten Beeren endlose Generationen solcher Hefenzellen erzeugten, in die Erde geführt worden sind. Sicherheit dafür, dafs es sich so verhält, können diese Untersuchungen jedoch natürlich nicht geben. Durch direkte Versuche habe ich indes nachgewiesen, dafs Zellen von verschiedenen Saccharomyces-Arten, die ich im Monat September in die Erde legte, nach Ablauf eines Jahres, also von einer Fruchtzeit zu der anderen, noch lebend waren. Die ersten von mir in dieser Richtung angestellten Versuche sind in der Zeitschrift des Carlsberger Laboratoriums 1882 (französ. Résumée p. 203) beschrieben; meine späteren Versuche finden sich in den obenerwähnten neuen Abhandlungen; unter den Saccharomyces-Arten war auch ein typischer Weinhefenpilz, den ich 1883 unter dem Namen Sacch. ellipsoideus I beschrieben habe, sowie die vorerwähnte Krankheitshefenart Sacch. Pastorianus I.

Es steht also fest, dafs wenigstens einige der echten Saccharomyces-Arten in der Erde überwintern können[1]), und ferner, dafs die süfsen saftigen Früchte denselben einen günstigen Nährboden darbieten. Ob während des Winters und Frühjahrs die Erde und im Sommer und Herbste die genannten Früchte ihren normalen Aufenthaltsort bilden, wissen wir jedoch noch nicht. Die bis jetzt vorliegenden Beobachtungen berechtigen uns nämlich nicht ohne weiteres, einen solchen Schlufs zu ziehen. Hierzu sind ähnliche experimentelle Beweise erforderlich, wie die von meinen Untersuchungen über den Kreislauf des Sacch. apiculatus erbrachten; diese Beweise beizubringen ist mir, wie gesagt, aber noch nicht gelungen. Nach den bisher ausgeführten Untersuchungen müssen wir noch immer die Möglichkeit einräumen, dafs die echten Saccharomyceten in der Natur andere Brutstätten und andere Überwinterungsorte als die genannten haben können, welche vielleicht gröfsere Bedeutung als diese besitzen. Es begegnet uns hier wieder die alte Frage, ob die Saccharomyceten selbständige Organismen seien oder nur Entwickelungsformen höherer Pilze. Sofern letzteres sich als das wahre Sachverhältnis erweisen sollte, müfsten wir natürlich auch diese Stammformen berücksichtigen, ja es wäre sogar möglich, dafs gerade sie den allergröfsten Wert für das Verständnis des Problems hätten. Diese rein theoretischen Untersuchungen bekommen also, von dieser Seite aus gesehen, auch ein praktisches Interesse. Trotzdem von mehreren der berühmtesten Forscher die energischsten Bemühungen zur Auffindung dieser vermeintlichen Stammformen gemacht wurden, so ist doch bisher noch keine Spur von solchen entdeckt worden. In der jüngsten Zeit hat bekanntlich namentlich Brefeld die Aufmerksamkeit wieder auf diese Frage gelenkt. Der gegenwärtige Stand der Sache ist der, dafs wir noch immer mit den Saccharomyceten als selbständigen Organismen rechnen müssen.

Aus den vorhergehenden Untersuchungen erhellt, dafs der Staub der Luft zu allen Zeiten des Jahres Zellen echter Saccharomyceten, darunter auch von Krankheitshefenarten, enthalten kann. Die Erde der Obstgärten bietet in dieser Hinsicht die gröfste Gefahr. Die Zucht neuer Zellengenerationen in der freien Natur geschieht also, wie wir gesehen haben, zu der Zeit, wo die süfsen saftigen Früchte des Gartens reif sind; dieses trifft in Dänemark, namentlich im August und September ein. Der Staub wird daher in

[1]) In einer Mitteilung über die Überwinterung der Weinhefenpilze (1890) schliefst Müller-Thurgau sich der von mir dargelegten Ansicht an. In einem Punkte hat er indes, wie das Vorhergehende zeigt, meine Abhandlungen mifsverstanden, indem er nämlich voraussetzt, dafs es meine Meinung sei, dafs die Verbreitung der Hefenzellen nur durch Hilfe des Windes geschehe.

diesen Monaten nicht nur an diesen Zellen am reichsten sein, sondern auch verhältnismäfsig weniger abgeschwächte Individuen enthalten als zu den anderen Zeiten des Jahres. Die Staubwolken, welche in diesen Monaten von der Erde der Obstgärten in die Höhe aufgewirbelt werden, enthalten oft eine reiche Ernte junger, kräftiger Zellen.

Meine obenerwähnten Analysen der Mikroorganismen der Luft zeigten, dafs die Saccharomyceten im Jahre 1879 im Zeitraume von Juni bis August allmählich mehr und mehr allgemein wurden, so dafs die durch dieselben bewirkte Infektion in dem letztgenannten Monat ihr Maximum erreichte. Danach trat wieder eine Abnahme ein. In den Jahren 1878 und 1880 war diese Infektion im August und September am reichlichsten, und zwar so, dafs das Maximum in den Anfang des letzteren Monats fiel. In den anderen Zeiten des Jahres waren sie sehr selten. August und September sind, was die Infektion mit wilden Hefenzellen anbetrifft, die zwei gefährlichsten Monate für die Brauereien.

Die offenen Kühlschiffe bilden den Weg, auf welchem diese Unheilstifter gewöhnlich in den Betrieb gelangen; zuweilen können sie jedoch auch direkt in den Gärkeller eindringen. Seltener werden sie zum Biere in den Lagerfässern Zutritt gewinnen können; aber selbst wenn dies geschieht, wird es, wie wir oben gesehen haben, unter normalen Verhältnissen keine Bedeutung erlangen können; dieses gilt wenigstens von den von mir untersuchten Arten.

Solange die Würze auf den Kühlschiffen ihre höchste Temperatur hat, werden die Hefenzellen entweder getötet oder jedenfalls an ihrer weiteren Entwickelung verhindert werden. Erst beim Sinken des Wärmegrades können sie ihre Sprofsbildung beginnen. Indem die gelüftete und abgekühlte Würze aus den Kühlschiffen in die Gärbottiche geführt wird, werden lebendige Hefenzellen sich in den Leitungen festsetzen und in der dünnen Flüssigkeitslage, welche übrig bleibt, sich vermehren können. Auf diese Weise können sich ganze Herde der Ansteckung bilden. Die nächste Portion Würze wird nun stärker infiziert werden als die vorhergehende. Man wird hieraus ersehen, wie wichtig eine häufige und gründliche Reinigung der Leitungen und ihrer Verbindungen ist; dafs das gleiche auch von den Kühlschiffen und von den Trubsäcken gilt, ist selbstverständlich. Über die Gefahren, welche diese letzteren mit sich führen können, hat Will in der „Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen“ 1892 wertvolle Aufklärungen gegeben. Von besonderer Wichtigkeit ist es, dafs die Anstellhefe so schnell als nur möglich der Würze in den Gärbottichen zugegeben wird, damit sie sogleich ihren Kampf mit den ungeladenen, gefahrbringenden Gästen beginnen kann.

Es ist jedoch nicht allein der Staub aus den Obstgärten, welcher die Krankheitshefenarten in die Brauereien bringen kann; eine weitere

Quelle der Ansteckung bildet das Faſsgeläger in den Lagerfässern. Dieses wird, selbst in den Brauereien, deren Betrieb in guter Ordnung ist, fast immer gröſsere oder geringere Portionen wilder Hefe enthalten; wenn die Brauerei von Krankheitshefen heimgesucht gewesen ist, so ist ein solches Faſsgeläger besonders gefährlich. Früher wurde diese Angelegenheit in den Brauereien im allgemeinen sehr vernachlässigt. Das Faſsgeläger wurde im Hofe verschüttet; ein Teil davon wurde sodann mit dem Fuſszeug der Arbeiter gerade in den Gärkeller gebracht; ein groſser Teil trocknete zu Staub ein und wurde in diesem Zustande vom Winde auf die Kühlschiffe und in den Gärkeller geführt. Ich habe vor einigen Jahren die Brauer auf diese Gefahr dringend aufmerksam gemacht. Es wird wohl auch jetzt gröſsere Vorsicht als zuvor in diesem Punkte gebraucht; doch ist es nicht überflüssig, aufs Neue daran zu erinnern.

Am häufigsten jedoch erschlieſst eine Brauerei der Krankheitshefe ihren Betrieb durch das Beziehen ihrer Stellhefe von einem anderen Geschäft; hiermit ist immer gröſsere oder geringere Gefahr verknüpft. Die bedeutenderen Brauereien haben deshalb auch jetzt das Reinzuchtsystem in ihren Betrieb aufgenommen.

Mischungen von Brauereihefearten.

Die beiden Unterhefenarten, welche ich in den Jahren 1883 und 1884 in dem Betriebe der Brauerei Alt-Carlsberg einführte, geben beide ein gutes und feines Produkt, sind aber doch, wie in meinen „Beobachtungen über Brauereihefenarten“ hervorgehoben, unter sich sehr verschieden. Betrachten wir die Sache von einem rein praktischen Standpunkte aus, so finden wir vor allem, daſs das mit Carlsberger Unterhefe Nr. 2 hergestellte Bier vollmundiger und kohlensäurereicher ist als das mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1 fabrizierte; andererseits ist dieses letztere Bier viel haltbarer. Unter diesen Umständen kam ich natürlich auf den Gedanken, Versuche mit Mischungen der beiden Arten anzustellen.

Der Direktor der Brauerei, Herr Kapitän Kühle, gab gütigst seine Einwilligung dazu, daſs diese Versuche im Betriebe selbst, also mit den gewöhnlichen groſsen Massen, ausgeführt würden. In einigen Fällen mischten wir die den beiden Hefenarten entstammenden Biere erst am Ende der Hauptgärung, so daſs die Lagerfässer beide Biersorten enthielten; in anderen Fällen verwendeten wir eine aus beiden Arten zusammengesetzte Anstellhefe. Da es sich schon damals gezeigt hatte, daſs Carlsberger Unterhefe Nr. 1 diejenige der beiden Arten war, welche trotz ihrer Mängel für den Betrieb der Brauerei Alt-Carlsberg am besten paſste, so wurden alle Versuche derart angestellt, daſs diese Hefenart in der genannten Anstellhefe im Übergewicht vorhanden war, und daſs

das von ihr stammende Bier ebenfalls den überwiegenden Teil der Mischung der beiden Biere ausmachte.

Die Einzelheiten dieser Versuche aufzuzeichnen, habe ich versäumt; als Hauptresultat ergab sich ein negativer Erfolg; dieses Mischungsbier, wie wir es nennen mögen, erreichte nicht die gewünschte Vollmundigkeit und war in allen Fällen weit weniger haltbar als das ausschliefslich mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1 hergestellte. Unter Haltbarkeit wird hier ebenso wie in den vorhergehenden Kapiteln das Verhältnis des fertig gelagerten Bieres zur Bildung von Hefenbodensatz verstanden, an Bakterienkrankheiten wird gar nicht gedacht. Die Versuche wurden ja auch immer mit Reinkulturen bekannter Hefenarten ausgeführt. — Haltbares Lagerbier nenne ich solches, welches, auf wohlgepfropfte Flaschen abgezogen, 2—3 Wochen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen kann, ohne einen bedeutenden Hefenbodensatz zu bilden und ohne sich zu trüben, wenn es nach Ablauf der genannten Zeit gut umgeschüttelt wird.

Da die erwähnten Versuche mit den Mischungen zu keinem Resultate führten, wurden sie aufgegeben, und die Brauerei basierte den weitaus gröfsten Teil ihres Betriebes auf die Hefe Nr. 1; vor einigen Jahren wurde Hefe Nr. 2 vollständig ausgeschossen, und die Gärung auf Alt-Carlsberg wird jetzt ausschliefslich von der ersteren Art ausgeführt.

Für mich war jedoch die Frage betreffs Hefenmischungen hiermit keineswegs zum definitiven Abschlufs gebracht. Meine zahlreichen Experimente mit Krankheitshefearten mufsten mich unwillkürlich auf neue Untersuchungen nach dieser Richtung hin führen, obschon von anderen Gesichtspunkten aus als früher. Bei dieser Gelegenheit will ich die Untersuchungen mitteilen, welche zur Beantwortung der Frage, wie Mischungen von Brauereihefearten sich mit Rücksicht auf die Haltbarkeit des Bieres verhalten, ausgeführt wurden.

I. Versuchsreihe. — Vier zweihalsige Literkolben, A, B, C, D, welche je 660 ccm derselben sterilisierten und gelüfteten gewöhnlichen Lagerbierwürze enthielten, wurden mit jungen, kräftigen Vegetationen der unten angegebenen Hefenarten infiziert. A wurde mit 1 ccm von Carlsberger Unterhefe Nr. 1, B mit 1 ccm der oben erwähnten Unterhefe aus der Brauerei Tuborg, C mit 1 ccm der letztgenannten Unterhefe und $^1/_4$ ccm von Carlsberger Unterhefe Nr. 1, D mit 1 ccm von Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und $^1/_4$ ccm von Tuborger Unterhefe beschickt. Die Hefe war in allen Fällen dickflüssig. Die Hauptgärung fand bei gewöhnlicher Zimmertemperatur statt. Nach Vollendung derselben zeigten die beiden Brauereihefenarten in A und B gute Klärung, während letztere in den mit der Hefenmischung beschickten Kolben, C und D, eine weniger gute war. Das Bier wurde jetzt in andere Kolben übergeführt und zur Lagerung bei 7° C stehen gelassen.

Nachdem es ungefähr 1½ Monate bei dieser Temperatur zugebracht hatte, waren A und B vollständig blank, C und D dagegen opalisierend. Das Bier wurde, ähnlich wie oben beschrieben, auf kleine Flaschen abgezogen.

Nach 12tägigem Stehenlassen des so abgezogenen Bieres bei gewöhnlicher Zimmertemperatur waren A und B blank ohne Hefentrübung; C und D waren dagegen noch ein wenig opalisierend und zeigten beide eine beginnende Hefentrübung, die namentlich in D deutlich bemerkbar war.

Nach 2monatlicher Lagerung waren C und D weniger opalisierend, verhielten sich aber übrigens im wesentlichen noch unverändert.

Während die beiden Brauereihefenarten in Reinkultur jede für sich tadellose Klärung gaben, sowohl während der Hauptgärung als während der Nachgärung, und auch haltbares Bier lieferten, war dieses also mit den Mischungen derselben nicht der Fall.

Eine noch stärkere Wirkung in derselben Richtung wurde hervorgebracht, wenn die Gärung von einer Mischung der Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und der Oberhefenart, welche ich Sacch. cerevisiæ I genannt habe, ausgeführt wurde.

Nachdem die im Laboratorium vorgenommenen Versuche also die bemerkenswerte Aufklärung ergeben hatten, dafs eine gute Brauereihefenart unter gewissen Umständen als Krankheitshefe auftreten kann, war es meine Aufgabe, zu untersuchen, ob dieses auch unter Brauereiverhältnissen stattfände. Zu diesem Zwecke stellte ich die beiden folgenden Versuchsreihen an, bei denen das Verfahren dem bei den oben beschriebenen Versuchen angewendeten genau entsprach. Die Versuchsanordnung ist überhaupt in allen Abschnitten der vorliegenden Abhandlung wesentlich die gleiche geblieben; die ausführlichste Beschreibung derselben findet sich in dem Abschnitte über Sacch. ellipsoideus II und Sacch. Pastorianus III.

II. Versuchsreihe. — Im Gärkeller der Brauerei Alt-Carlsberg wurden zwei der oben erwähnten hölzernen Bottiche B und D aufgestellt und mit je 1 Tonne (1½ hl) Lagerbierwürze von 14,4% Ball. gefüllt. Die Temperatur der Würze bei der Hefenzugabe betrug 7° C.

B wurde mit 400 g Carlsberger Unterhefe Nr. 2 beschickt,
D „ „ 360 „ „ „ „ „ und
40 „ Carlsberger Unterhefe Nr. 1 beschickt.

Die Hefe war ziemlich dickflüssig und bestand aus jungen, kräftigen, in Würze bei ca 10° C. erzeugten Vegetationen.

Nach 9 Tagen betrug der Extraktgehalt in B 7,96 und in D 8,04% Ball. B zeigte eine gute, D ziemlich gute Klärung. Das aus jedem Bottiche stammende Bier wurde jetzt in zwei Fässer geschlaucht, welche sodann in den Lagerkeller gelegt wurden, dessen Temperatur ca. 2° C. betrug.

Nach 1¼ monatlicher Lagerung wurde, auf die im Vorhergehenden erwähnte Weise, aus der einen Reihe der Fässer in eine gröfsere Anzahl Flaschen Bier

abgezogen, welche sodann in einem dunklen Schrank bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen gelassen wurden. In B wurde der Extraktgehalt zu 7,23, in D zu 6,90% Ball. gefunden. Das Bier war in beiden Fällen vollständig klar. Nach 11 Tagen war noch kein Bodensatz darin zu bemerken. Nach 15 Tagen war B noch immer frei von Hefentrübung, während D dagegen den Beginn einer solchen zeigte.

Nach dreimonatlicher Lagerung wurden in gleicher Weise wie oben beschrieben Proben aus der zweiten Reihe von Fässern genommen. In B wurden 6,49, in D 6,41% Ball. gefunden. Das Bier war vollständig klar. Nach zehntägigem Stehen war noch kein Bodensatz darin zu bemerken. Fünf Tage später wurde in B ein sehr geringer Bodensatz wahrgenommen, der aber beim Schütteln keine Hefentrübung in der Flüssigkeit bewirkte; in D war dieser Bodensatz ein wenig mehr entwickelt, und beim Schütteln wurde die Flüssigkeit verschleiert. Die nach 1¼ monatlicher Lagerung hervortretende Verschiedenheit in der Haltbarkeit war also nach dreimonatlicher Lagerung fast ganz verschwunden.

III. Versuchsreihe. — Die Würze enthielt in dieser Reihe 14% Ball. und die Gärung fand in vier Bottichen statt.

C	wurde	mit	400 g	Carlsberger	Unterhefe	Nr.	1	beschickt,
D	„	„	380 „	„	„	„	„	und
			20 „	Carlsberger	Unterhefe	Nr.	2	beschickt,
E	„	„	400 „	„	„	„	„	„
F	„	„	380 „	„	„	„	„	und
			20 „	Carlsberger	Unterhefe	Nr.	1	beschickt.

Während in der II. Versuchsreihe das Verhältnis zwischen den beiden Arten der Mischung = 9 : 1 war, war es in dieser Reihe = 19 : 1; im übrigen stimmten die beiden Reihen überein.

Die Hauptgärung war nach 11 Tagen vollendet; der Extraktgehalt in C betrug jetzt 7,31; in D 7,64; in E 7,39; in F 7,64% Ball. C und D zeigten eine ziemlich schlechte Klärung, bei E und F war dieselbe gut. D stand vielleicht ein wenig unter C, und F ein wenig unter E. In Übereinstimmung mit der vorigen Reihe war die Attenuation in D ein wenig schwächer als in C und in F ein wenig schwächer als in E. Die Lagerung ging in der bei der vorigen Versuchsreihe erwähnten Weise vor sich.

Nach 1% Monaten wurde der einen Reihe der Fässer eine gröfsere Anzahl Proben, in den oft genannten Flaschen, entnommen. Das Bier war in allen Fällen klar. In C wurden 6,58; in D 6,90; in E 6,25 und in F 6,33% Ball. gefunden. Nach 14tägigem Stehen der Flaschen zeigten C und E einen sehr geringen Bodensatz, der beim Schütteln keine Hefentrübung bewirkte; in D und F hatte sich dagegen ein stärkerer Bodensatz entwickelt, und beim Schütteln wurde das Bier schwach hefentrüb. Es trat also auch in dieser Versuchsreihe ein bemerkbarer Unterschied hervor zwischen der Haltbarkeit des mit Reinkulturen je einer der beiden Brauereihefenarten dargestellten und anderseits der des mit den Mischungen vergorenen Bieres.

Nach ungefähr dreimonatlicher Lagerung wurde das Bier der zweiten Reihe von Fässern in der oben beschriebenen Weise in Flaschen abgezogen. In C wurden 6,17; in D 6,33; in E 6,25 und in F 6,33 % Ball. gefunden. Das Bier war in allen Fällen vollständig klar und haltbar. Der einzige Unterschied, welcher in letzterer Beziehung jetzt zu bemerken war, zeigte sich darin, dafs die D entnommenen Bierproben im Gegensatze zu den übrigen durch Schütteln sehr schwach verschleiert wurden; von Hefentrübung war aber auch hier nicht die Rede.

Eine Zugabe von Brauereiunterhefe zu gewöhnlichem Lagerbier in dem Stadium, in dem dasselbe in den Lagerkeller gebracht wird, hatte keinen nachteiligen Einfluſs auf die Haltbarkeit des Bieres; dasselbe gilt von der Zugabe, wenn sie in den kleinen Fässern und Flaschen, in die das fertig gelagerte Bier abgezogen war, stattfand. Diese Versuche wurden in gleicher Weise wie die entsprechenden, in den vorhergehenden Abschnitten erwähnten, angestellt. In allen Fällen habe ich auf normale, gute Brauereiverhältnisse Rücksicht genommen.

Hauptresultat. In den untersuchten Fällen zeigte es sich also, dafs die Anstellhefe weniger haltbares Bier gibt, wenn sie aus einer Mischung zweier Brauereihefenarten, als wenn sie nur aus einer der Arten allein, gleichviel welcher, besteht. In diesen Mischungen trat die in den geringsten Quantitätsverhältnissen vorhandene Art als eine Krankheitshefe auf. Die Versuche lehrten uns, dafs dieses nicht nur dann geschah, wenn die zwei Arten der Mischung sich quantitativ wie 9 : 1 verhielten, sondern auch, wenn das Verhältnis = 19 : 1 war, also wenn nur $^1/_{20}$ der Anstellhefe aus einer fremden Brauereihefenart bestand. Wir stehen hier dem eigentümlichen Falle gegenüber, dafs gute Brauereihefenarten gleichsam ihre Natur verändern, so dafs sie hernach als Krankheitshefen wirken.

Wenn wir uns erinnern, dafs Carlsberger Unterhefe Nr. 2 zu denjenigen Arten gehört, welche nicht besonders haltbares Bier geben, so ist eigentlich nichts Auffälliges darin, dafs die Zugabe dieser Art zu einer hauptsächlich aus Carlsberger Unterhefe Nr. 1 bestehenden Stellhefe bewirkt, dafs das Bier weniger haltbar wird, als wenn die letztgenannte Hefenart für sich allein die Gärung ausgeführt hat.

Sonderbar ist es dagegen, dafs eine Zugabe von Carlsberger Unterhefe Nr. 1, die sich ja gerade dadurch auszeichnet, dafs sie haltbares Bier gibt, zu einer Stellhefe, deren Hauptmasse von der andern der genannten Hefenarten gebildet war, dennoch bewirkt, dafs das damit hergestellte Bier ebenfalls weniger haltbar wurde, als wenn es mit Carlsberger Unterhefe Nr. 2 allein fabriziert war.

Die beschriebene Erscheinung trat nur dann hervor, wenn die Lagerung des Bieres in einem ziemlich frühzeitigen Stadium, nämlich nach $1^1/_4$- bis $1^2/_3$-monatlicher Lagerung, unterbrochen wurde; nach dreimonat-

licher Lagerung war höchstens nur mehr eine schwache Andeutung davon zu bemerken. Nach 1¼ Monaten jedoch war das Bier in allen Fällen klar und, wenn von der Hefe Nr. 2 fabriziert, von einer solchen Beschaffenheit, dafs es als fertig gelagert anzusehen war.

In den Brauereien, welche mit Hefenarten wie die letztgenannte arbeiten und daher eine kurz dauernde Lagerung anwenden, werden Mischungen wie die hier beschriebenen Störungen hervorrufen können. In dem ersten Hefte meiner „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie" habe ich übrigens an mehreren Stellen von verschiedenen Gesichtspunkten aus die Frage über die Anwendung von Mischsaaten erörtert.

Diese Untersuchungen liefern einen neuen Beweis dafür, dafs man in den Brauereien mit einer Reinkultur einer einzelnen ausgewählten Art oder Rasse arbeiten soll.

Mycoderma cerevisiae.

Mit diesem Namen werden bekanntlich die Hefenzellen bezeichnet, welche mit grofser Leichtigkeit Häute auf Bier und anderen alkoholhaltigen Flüssigkeiten bilden, aber keine Endosporen entwickeln und somit nicht zu den Saccharomyceten gehören. Es ist mit diesem Namen wie mit mehreren anderen ergangen: mit dem Vordringen der Forschung lernte man einsehen, dafs der systematische Name nicht eine, sondern mehrere Arten umfafste. Einige dieser Spezies erregen alkoholische Gärung, obgleich bei weitem nicht so kräftig wie die meisten Saccharomyceten. Ferner gibt es unter den Mycoderma-Arten einige, welche zufolge der neuesten Untersuchungen Krankheiten in untergärigen Bieren hervorrufen. Von mehreren Seiten ist die Aufforderung an mich gerichtet worden, mich über die Frage auszusprechen; ich glaubte, dafs dieses am besten im Zusammenhange mit den obigen Untersuchungen geschehen könne.

Wenn man Studien in den Lagerkellern der Kopenhagener Brauereien vornimmt, wird man dem Mycoderma cerevisiae allenthalben begegnen. Dies hob ich schon im Jahre 1878 in meinen Untersuchungen über die Mikroorganismen des Bieres hervor. In den darauffolgenden Jahren unternahm ich sehr umfassende Studien des Bieres in den Lagerfässern der Brauerei Alt-Carlsberg, und zwar sowohl des gewöhnlichen Lagerbieres als des Exportbieres. Ein jedes Fafs war von den genannten Hefenzellen angegriffen; aber dennoch war niemals ein Anzeichen davon zu bemerken, dafs das Bier aus diesem Grunde von irgend einer Krankheit befallen sei. Die Zellen waren auch in den Perioden häufig, in welchen das Bier sich gerade in besonderem Grade durch Haltbarkeit und Wohlgeschmack auszeichnete.

In den letzten Jahren hat der Vorstand des Laboratoriums der Brauerei Alt-Carlsberg, Herr Anton Petersen, ähnliche Untersuchungen vorgenommen und ist hierdurch zu demselben Resultat gelangt; dies gilt ebenfalls von Prof. Grönlunds Untersuchungen auf Neu-Carlsberg. Ferner hat Herr Direktor Alfred Jörgensen mir mitgeteilt, dafs alljährlich mehrere Hundert Proben kranken Bieres zur Untersuchung in seinem Laboratorium eingesandt werden, aber in keinem Falle haben weder er noch seine Mitarbeiter wahrgenommen, dafs Mycoderma cerevisiae die Krankheitsursache sei. Das gleiche Resultat haben er und seine Mitarbeiter bei ihren Untersuchungen über Störungen im Brauereibetriebe selbst erhalten.

Die Biere der Brauereien Alt-Carlsberg und Neu-Carlsberg gehören zu den stärkeren; das Lagerbier wird zur Zeit mit ca. 14%, das Exportbier mit ca. 16% Ball. eingebraut. Die Mehrzahl der in Direktor A. Jörgensens Laboratorium untersuchten Biere gehören der Hauptsache nach derselben Kategorie an. Es liefse sich nun denken, dafs der Grund, warum die genannten Hefenzellen keine Krankheiten in dem von ihnen befallenen Biere hervorrufen, in dem grofsen Extraktreichtum der Würze läge. Anderseits wäre ja auch denkbar, dafs etwas ganz anderes die Ursache sei, dafs nämlich die z. B. in den beiden letztgenannten grofsen Brauereien befindlichen Arten oder Rassen das Bier überhaupt nicht derart umzubilden fähig sind, dafs es bemerkbaren Schaden erleidet und krank wird. Diese Anschauungen haben, wie wir im folgenden sehen werden, beide ihre Vertreter gefunden.

Wenn wir die in den Kopenhagener Bieren normal auftretenden Vegetationen von Mycoderma cerevisiae als wesentlich unschädlicher Natur bezeichnen, so gilt dies natürlich nur unter der Voraussetzung, dafs das Bier keiner unpassenden Behandlung ausgesetzt wird. Läfst man es jedoch z. B. lange Zeit hindurch in der Wärme, in schlecht gespundeten Fässern oder in schlecht gepfropften Flaschen, so wird seine Oberfläche schnell mit Häuten von Mycoderma cerevisiae überzogen werden, und diese Vegetation wird unter solchen Umständen genügen, um das Bier gänzlich zu verderben.

Der erste, welcher die Anschauung aussprach, dafs Mycoderma cerevisiae unter gewissen Umständen Schaden in den Brauereien verursachen kann, war Belohoubek. Vier Jahre später, im Jahre 1889, veröffentlichte Kukla in den „Berichten der Versuchs-Anstalt für Brauindustrie in Böhmen“ einige Mitteilungen über Biertrübung. Diese Krankheit trat in zweierlei Weise auf. Nach 3- bis 4-wöchentlichem Aufenthalt in den Lagerfässern war das Bier gleichsam mit einem feinen Staube gefüllt, und diese Verstaubung nahm von Tag zu Tag zu. In dem zweiten Falle war das Bier nach vollendeter Gärung im Lagerkeller klar, und

erst nachdem es nach dem Abziehen einige Zeit in den Kellern der Konsumenten zugebracht hatte, wurde es verstaubt. Beide Formen der Krankheit werden dem Umstande zugeschrieben, dafs Mycoderma cerevisiae während der Hauptgärung zugegen gewesen sei und sich vermehrt habe. Kukla spricht ferner die Ansicht aus, dafs die in den böhmischen Brauereien allgemein verwendete, schwache, zehngrädige Würze einen besonders günstigen Nährboden für den genannten Pilz bilde. Er glaubt ferner, dafs das Malz zu der Zeit, wo er seine Untersuchungen vornahm, eine abnorme Zusammensetzung hinsichtlich des Verhältnisses zwischen den einzelnen Eiweifsstoffen gehabt habe, und dafs in der Würze ein Mifsverhältnis zwischen Zucker und Nicht-Zucker vorhanden gewesen sei. Eine wissenschaftliche Begründung der ausgesprochenen Ansichten gibt Kukla jedoch nicht in seiner Mitteilung. Er verspricht, in einer besondern Abhandlung eine solche zu geben. So lange diese nicht vorliegt, wird es nicht möglich sein, ein Urteil über diese eigentümlichen Fragen zu fällen.

In der Abhandlung, in welcher ich das Verhältnis der Alkoholhefenpilze zu den Zuckerarten behandelte, habe ich die Vermutung ausgesprochen, dafs unter dem Namen Mycoderma cerevisiae sich nicht eine, sondern mehrere Arten verbergen.

Erst durch Lasches Untersuchungen haben wir bestimmte diesbezügliche Aufklärungen erhalten. In „Mitteilungen aus Wahl und Henius' Versuchsstation für Brauerei in Chicago, 1891", beschreibt er, wie er aus trübem Bier vier verschiedene Arten oder Rassen ausgeschieden hat, welche alle unter dem alten systematischen Namen Mycoderma cerevisiae zusammengefafst werden können. Er stellte Versuche mit denselben in mit sterilisierter Würze gefüllten Kolben bei 10° C. an und teilt mit, dafs diese Arten sich in Würze, in der sie im Verein mit einer Brauereihefenart eine Hauptgärung durchmachten, stark vermehrten. Was später mit dem so infizierten Biere während und nach der Lagerung geschah, davon wird leider nichts gesagt.

Einen andern Versuch stellte Lasche auf die Weise an, dafs er klares, fehlerfreies Bier, welches gerade die Hauptgärung vollendet hatte, auf Flaschen abfüllte. In einigen Fällen wurde es jedoch erst durch Papier filtriert. Diese Flaschen wurden danach mit je einer der oben erwähnten vier Mycoderma-Arten infiziert. Die eine Reihe der Flaschen wurde gut gepfropft, die andere dagegen nur mit Watteptopfen verschlossen. Es stellte sich nun heraus, dafs die Mycoderma-Zellen sich in den meisten der letztgenannten Flaschen, einerlei ob sie bei 10 oder bei 4—6° C. standen, kräftig entwickelten, und dafs das Bier bereits nach fünf Tagen trüb war. In den mit gewöhnlichen Stöpseln gut verschlossenen Flaschen kamen unter den genannten Umständen nur zwei

Arten zur Entwickelung. Die Versuche wurden jetzt abgebrochen, und wir erfahren somit auch hier nicht, in welchem Zustande das Bier sich nach Vollendung einer normalen Lagerung befand.

Diese sowie auch die vorhergehenden Untersuchungen verdienen es, in der Weise wieder aufgenommen zu werden, dafs die Versuche im Gärkeller und Lagerkeller, jedenfalls aber unter solchen Verhältnissen, welche mit den in den Brauereien gewöhnlichen genau übereinstimmen, ausgeführt werden. Solche Versuche in der Brauerei selbst sind freilich mit besonderen Schwierigkeiten verknüpft; aber es lohnt sich vollends der Mühe; denn nur auf diesem Wege ist es möglich, über diese praktischen Fragen ins klare zu kommen.

Zuletzt teilt Lasche noch mit, dafs er dadurch, dafs er mit reingezüchteter Hefe dargestelltes Bier mit seinen Mycoderma-Arten infizierte und hierauf bei gewöhnlicher Zimmertemperatur hinstellte, zu dem Resultate gelangte, dafs drei seiner Arten im Laufe von 4—7 Tagen eine Trübung im Biere und nach zwei Wochen auch noch eine Verschlechterung seines Geschmacks und Geruchs bewirkten. Die vierte Art dagegen beeinträchtigte unter den genannten Umständen das Bier in keiner Weise.

Falls hier, wie ich annehmen mufs, von fertig gelagertem, auf wohlgepfropfte Flaschen abgezogenem untergärigem Biere die Rede ist, so sind diese drei Mycoderma-Arten unleugbar als sehr gefährlich in diesem Stadium der Gärung anzusehen.

Die von mir untersuchte Form von Mycoderma cerevisiae, welche wenigstens vor einigen Jahren die Hauptmasse der Mycoderma-Vegetationen in den Bieren auf Alt- und Neu-Carlsberg bildete und sicher noch heute den wesentlichsten Teil davon ausmacht, ist nicht nur dadurch von den von Lasche aufgestellten Arten oder Rassen verschieden, dafs sie, wie oben hervorgehoben, keine Krankheit im Biere hervorruft, sondern auch noch dadurch, dafs sie keine Alkoholgärung in Bierwürze bewirkt. Eine von Lasches Arten bildete 0,26, zwei andere je 0,79 und die vierte sogar 2,51 Vol. % Alkohol in Bierwürze. Die von Lasche und die von mir untersuchten Vegetationen sind folglich von einander deutlich verschieden.

Das **Hauptresultat** ist also dieses, dafs unter den gewöhnlich mit dem alten systematischen Namen Mycoderma cerevisiae bezeichneten hautbildenden Arten sich wenigstens eine Art findet, welche zu den für die Bierfabrikation unschädlichen gerechnet werden mufs. Diese Art tritt in grofsen Massen in den Kopenhagener Brauereien auf und bildet den Gegenstand meiner Untersuchungen.

Diejenigen Mycoderma-Krankheiten, über welche in der jüngsten Zeit von den Versuchsstationen in Prag und Chicago berichtet wird,

werden durch ganz andere Arten herbeigeführt; dies gilt allenfalls von den von Lasche untersuchten.

Juli 1892.

IV.

Über die gegenwärtige Verbreitung meines Hefereinzucht-Systems.

I. Der Zweck dieser Übersicht.

In meinen Abhandlungen in der Zeitschrift des Carlsberger Laboratoriums und im I. Heft meiner „Unters. aus der Praxis der Gärungsindustrie" habe ich eine ausführliche Darstellung der von mir zur Reinzucht, Analyse und Behandlung der Hefe, sowohl in der Brauerei als im Laboratorium ausgearbeiteten Methoden gegeben. Ich setze hier diese Arbeiten als bekannt voraus.

Eine jede Untersuchung, welche in durchgreifender Weise eine alte, eingewurzelte Auffassung zu verändern sucht, wird unumgänglich auf Widerstand stofsen, und doppelt heftig wird dieser, wenn die Frage, um welche es sich handelt, nicht allein theoretisches, sondern auch ein praktisches Interesse hat. Nichts vermag indes, eine solche Sache besser zu fördern, als günstige praktische Resultate. Der Forscher, welcher Reformen auf dem Gebiet des praktischen Lebens hervorzurufen wünscht, darf es nicht unter seiner Würde halten, selbst in der Praxis mit zu arbeiten; eben da sind die Schlachten zu gewinnen. Theoretische Beweise und Ausführungen nützen nur wenig. Dafs seine Arbeit dennoch auf einer wissenschaftlichen Grundlage basiert werden mufs, versteht sich von selbst.

Im Jahre 1888 gab ich eine Übersicht über die Verbreitung, welche mein System bis dahin erreicht hatte; ich hob hierin besonders diejenigen Brauereien hervor, welche in ihrem Betriebe den Reinzucht-Apparat eingeführt hatten. Diese Mitteilungen thaten ihre Wirkung, namentlich wegen der darin enthaltenen genauen Adressen. Den Praktikern war hiermit Gelegenheit geboten, selbst in den angegebenen, vorzüglich renommierten Fabriken zu erfahren, welche Resultate erzielt worden waren, und so die Richtigkeit meiner Angaben zu kontrollieren. In der neuen Übersicht, welche ich im folgenden dem Publikum unterbreite, habe ich dasselbe Verfahren befolgt, indem ich auch hier wieder das Hauptgewicht darauf gelegt habe, ein Verzeichnis der den Reinzucht-Apparat anwendenden Fabriken zu geben. Bei dem jetzigen Standpunkte der Entwickelung würde es überdies zu weitläufig sein, alle die Anstalten zu nennen, welche die Reinzucht in ihren Betrieb aufgenommen haben;

denn die meisten bedienen sich meines alten Verfahrens (Vermehrung der Reinkulturen in kleinen Gärbottichen von der gewöhnlichen Gestalt).

Ein Verzeichnis, welches, wie dieses, Adressen aus beinahe allen Weltteilen umfafst, wird natürlich immer unvollständig sein, wie viel Mühe man sich auch damit geben mag. Es ist nicht aus Mangel an Höflichkeit, wenn Namen, welche mit aufgenommen sein sollten, weggelassen worden sind. [1])

Die meisten der unten verzeichneten Fabriken benutzen den von Brauereidirektor Kapitän Kühle und mir gemeinschaftlich konstruierten Apparat für gröfsere, mit Dampfkraft versehene Fabriken (siehe Beschreibung im I. Heft meiner „Unters. aus der Praxis der Gärungsindustrie"); in einigen findet sich irgend eine Modifikation davon, und wieder in anderen bedient man sich des von Bergh und Jörgensen oder des von Marx konstruierten Apparates. In den mit einem Stern bezeichneten Fabriken verwendet man den kleinen von Lindner dargestellten Apparat.

Eine grofse Anzahl der Laboratorien, welche sich mit der Darstellung der reinen Hefe zum Gebrauche in der Praxis befassen, benutzen ebenfalls hierzu den Reinzuchtapparat. Da mein Verzeichnis indes meinem Plane gemäfs nur die Fabriken selbst umfassen soll, werden die Laboratorien hier übergangen.

In dem Verzeichnis von 1888 waren nur Adressen von Untergärungs-Brauereien gegeben; die Zahl dieser ist im gegenwärtigen Verzeichnisse sehr erheblich gewachsen, ein greifbarer Beweis von dem Fortgange, den das neue System seit den letzten vier Jahren erfahren hat. Dieses zeigt sich auch darin, dafs dasselbe sich jetzt auch in die Obergärungs-Brauereien, Spiritus- und Prefshefenfabriken sowie Trauben- und Fruchtweingärungen den Weg gebahnt hat, kurz, in alle Zweige der grofsen Industrie, wo Alkoholgärung verwendet wird.

Die vorliegende Übersicht gibt den Praktikern, welche sich gegenüber meinen Reformbestrebungen noch zweifelnd oder ablehnend verhalten, die Gelegenheit, sich leichter als es früher möglich war, in der Praxis selbst,

---

[1]) Das Verzeichnis, welches im Juli 1892 abgeschlossen wurde, ist nach den Zeitschriften und nach Mitteilungen von den unten genannten Herren ausgearbeitet. Diesen bringe ich hierdurch aufs neue meinen besten Dank.

Prof. Dr. Aubry (München), Fabrikant S. Baumann (Wien), Inspektor Bischoff (Fredericia), Burmeister & Wains Fabriken (Kopenhagen), Gutsbesitzer Ebbensgaard (Hefenfabrik Handbjerg bei Struer, Jutland), Dr. Eckhardt (Wien), Laboratoriumsvorstand Holten (Wandsbeck), Fabrikant W. Jensen (Kopenhagen), Direktor Alfr. Jörgensen (Kopenhagen), Dr. Kokosinski (Lille), Direktor Kukla (Prag), Prof. Dr. Van Laer (Gent), Dr. P. Lindner (Berlin), Direktor Olesen (Kopenhagen), Fabrikant Pest (Berlin), Dr. Prior (Nürnberg), Fabrikant Schneider (Hamburg), Prof. Dr. Vuylsteke (Löwen), Dr. Wahl und Dr. Henius (Chicago), Dr. Wichmann (Wien) und Direktor Wilson (London).

nach den erzielten Resultaten zu erkundigen. Da ich mir kein Patent habe geben lassen oder irgendwie pekuniären Gewinn aus meinen Arbeiten gezogen habe, so wird man die Absicht dieses Verzeichnisses nicht mifsverstehen können.[1])

2. Die Untergärungs-Brauereien.

Die unten verzeichneten Fabriken arbeiten mit je einem oder mehreren Reinzucht-Apparaten; die Brauereien Alt- und Neu-Carlsberg verwenden z. B. je drei Gärcylinder.

Europa.

Dänemark.

Gamle Carlsberg, Kopenhagen.
Ny Carlsberg, „
Tuborg, „
Rahbeks Allee, „
Marstrand, „
Albani, Odense.
Ceres, Aarhus.

Norwegen.

Frydenlund, Kristiania.
Ringnes, „
Schou, „
Jonassen, Skien.

Schweden.

Bjurholm & Co, Stockholm.
Wiener Bryggeriet, „
Stora Bryggeriet, „
Lyckholm & Co., Göteborg.
A. Sandwall, Borås.

Deutschland.

Victoria-Brauerei, Akt.-Ges., Berlin.
Böhmisches Brauhaus, „
Carl Gregory, Berlin.
Akt.-Brauerei-Ges. Friedrichshöhe (vorm. Patzenhofer), Berlin.
Vereinsbrauerei Rixdorf, Berlin.
Akt.-Ges. Schlossbrauerei Schoeneberg, Berlin.
Akt.-Brauerei-Ges. Moabit, Berlin.
Berliner Bockbier-Brauerei, Berlin.
Schultheifs-Brauerei Akt.-Ges., „
F. W. Reichenkron, Berliner Bären-Brauerei, Charlottenburg b. Berlin.
*Pfefferberg, Berlin.
Versuchsbrauerei, Berlin.
Export-Brauerei Teufelsbrücke (vrm. Rofs & Co.), Kleinflottbeck bei Hamburg.
Löwen-Brauerei, Akt.-Ges., Hamburg.
St. Pauli, Akt.-Brauerei, „
Marienthal, Akt.-Brauerei, Wandsbeck.
Holsten-Brauerei, Altona.
Weber, Harburger Akt.-Brauerei, Harburg.
Stett. Bergschlofs-Brauerei, Komm.-Ges. a. A. (vorm. Rud. Rückforth), Stettin.
Mahn & Ohlerich, Akt.-Brauerei, Rostock i. M.
*Matschenz, Neu-Strelitz.
Lindener Akt.-Brauerei, Hannover.
Städt. Lagerbier-Brauerei, „

[1]) Anläfslich der Anfragen, welche mir noch öfters zugehen, erlaube ich mir hierdurch wieder hervorzuheben, dafs das unter meiner Leitung stehende Laboratorium nur eine wissenschaftliche Forschungsanstalt ist und daher es nicht auf sich nehmen kann, Analysen auszuführen, Reinkulturen darzustellen oder überhaupt irgend eine Arbeit für die Herren Gewerbetreibenden auszuführen.

Kaiserbrauerei Ricklingen, R. b. Hannover.
Bavaria, Akt.-Brauerei, Posen.
Frankf. Bierbrauerei-Ges., Frankfurt a. M.
C. Bauer, Halle a. S.
Riebeck & Co., Leipz. Bierbrauerei, Reudnitz, Leipzig.
Akt.-Brauerei, Erfurt.
*Frohberg, Grimma.
*Nostitz, Zittau.
*Schaar, Poesneck in Th.
*Felsenkellerbrauerei, Meifsen.
*Bürgerliches Brauhaus, Dresden-Plauen.
Otto Allendorf, Kaiserbrau., Schönebeck a. d. Elbe.
Westphalia, Harpe in W.
Englisch Brunnen, Akt.-Brauerei, Elbing.
Bergische Brauerei-Ges. (vorm. Gust. Küpper), Elberfeld.
Altenburger Akt.-Brauerei, S. Altenburg.
Rheinische Brauerei-Ges., Alteburg b. Köln.
I. Geyl, Bierbrauerei E. Meyer, Mainz.
*Ankl. Bergschlofsbrauerei, Anklam.
*C. Wolters & Co., Herzogl. Hofbrauhaus, Braunschweig.
*Salomon, Braunschweig.
*Baldes, St. Johann.
H. & I. ten Doornkaat - Koolmann, Westgaste b. Norden, Ostfriesland.
*Stams, Wesel.
*Ebert, Scheibe.
*Stadtbrauerei, Eilenburg.
F. Brinkmann, Herbede.
Dortm. Brauerei-Ges., Dortmund.
*Bautz & Co., München-Gladbach.
Erste Bamberger Exp.-Bierbrauerei Frankenbräu, Bamberg.
Staatsbrauerei Weihenst., Weihenstephan b. München.
Dr. Hugo Eckenroth, Ludwigshafen a. R.
Gebr. Grüner, Fürth.
Conrad Fuglsang, Mühlheim a. d. Ruhr.
Akt.-Bierbrauerei, Essen a. d. Ruhr.
Rob. Leicht, Vaihingen a. d. Fildern, Württemberg.
C. Wiedmayer, Möhringen a. d. Fildern, Württemberg.
Brauerei d. Versuchsstation, Hohenheim, Württemberg.
I. H. Bernecker, Böhmisches Brauhaus, Insterburg.
Adelshoffen (vorm. Ehrhardt frères), Schiltigheim, Strafsburg.
Th. Boch & Co., Lutterbach, Elsass.
E. Lychenheim, Schwartau.

Österreich.

A. Drehers Brauhaus, Klein-Schwechat b. Wien.
Brunner Brauerei, Brunn a. Gebirg b. Wien.
Krotoschin, Mähren.

Frankreich.

La Meuse, Bar-le-duc.
M. Schmidt, Belfort.

Holland.

De Deli Brouwerij, Nieuwer Amstel b. Amsterdam.
Heinecken, Rotterdam.
*Arminius Bau, Haag.
*Smits von Waesberghe, Breda.

Schweiz.

Uetliberg, Wiedikon b. Zürich.

Finland.

Söderström, Sörnäs, Helsingfors.

Rufsland.

Kalinkin, St. Petersburg.

Neu-Bavaria, St. Petersburg.
I. Durdin, „
Trochgorny, Moskau.
Karneef & Gorschanoff, Moskau.
Kuntzendorff, Riga.
Ilgezeemsche Bierbrauerei, Riga.
v. Stritzky, Riga.
Fr. Jenny & Co., Odessa.
Kempe & Durian, „
Sanzenbacher & Co., Odessa.

Polen.

Haberbusch & Schiele, Warschau.

Spanien.

La cruz blanca, Santander.

Amerika.

Nord-Amerika.

S. Liebman's Sons Brewing Co., Brooklyn, New-York.
M. Gottfried, Brewing Co., Chicago, Illinois.
F. J. Dewes, Brewing Co., Chicago, Illinois.
Pet. Schönhofen, Brewing Co., Chicago, Illinois.
Pabst, Brewing Co., Milwaukee.
Jos. Schlitz, Brewing Co. „
Anheuser Busch, Brewing Association, St. Louis, Missouri.
Reymann, Brewing Co., Wheeling, West Virginia.
San Francisco Breweries Limited, San Francisco, Californien.
Compania Cervecera, Toluca, Mexiko.

Süd-Amerika.

Ernst Stier, Calo Santa Fé, Buenos Ayres.
Brasserie Argentine, Quilmer, Buenos Ayres.
H. Winkler, Montevideo.
Nieding, „
Th. Schmidt, Tucumane, Argentina.
*Hoffmann & Ribbeck, Valparaiso, Chile.
Don Carlos Schormann, Valparaiso, Chile.
Cornelius & Co., Valparaiso, Chilo.
Anwandter Hos, Valdivia, Chile.
Keller Hermanos, Concepcion, Chile.
Ernst Schultze & Co., La Paz.
G. Fuchs, San Francisco de Limache.
Fabrica Cerveja Bavaria, St. Paulo, Brasilien.

Asien.

The Osaka Brewing Co., Japan.
The Manila Brewery, Manila.

Australien.

The Foster Brewing Co., Melbourne.

Nur wenige von den Brauereien, welche nun mein System in ihren Betrieb aufgenommen haben, verwenden hierzu die oben erwähnten Apparate; die meisten arbeiten, wie schon oben berührt, noch immer nach meinem alten Verfahren, indem sie zu der ersten Vermehrung der Hefe sich kleiner, gewöhnlicher Gärbottiche bedienen. Die Zahl solcher Brauereien beträgt mehrere Hundert, und sie finden sich in allen Ländern, wo Untergärung verwendet wird. Alfred Jörgensens Laboratorium in Kopenhagen hat mir mitgeteilt, dafs es seinesteils jährlich 66 solche kleine Fabriken in verschiedenen Ländern mit reingezüchteter Hefe versieht.

Im „Bayerischen Brauer-Journal“ vom 18. Juli 1891 teilt Dr. Prior, Direktor der vom kgl. bayerischen Staate subventionierten Versuchsstation in Nürnberg, mit, dafs diese Station jährlich mehrere tausend Liter in kleinen Portionen an die kleinen Brauereien Bayerns versendet. Mehrere der anderen Stationen, welche sich gleichfalls mit der Herstellung reingezüchteter Hefe zu Brauereizwecken befassen, können wahrscheinlich auch auf eine ähnliche Thätigkeit hinweisen.

Eine eigentümliche Stellung nimmt Böhmen ein. Das Brauereiwesen hat in diesem Lande bekanntlich einen hervorragenden Platz erreicht; dennoch war es eins von den Ländern, wo die Hefen-Reinzucht spät eingeführt wurde, nämlich erst lange nachdem sie in mehreren anderen Anerkennung gewonnen hatte. Zwar trat in einem frühen Stadium Prof. Dr. Belohoubek als Vertreter dieser Reform auf, indem er gleichzeitig zur Errichtung einer Versuchsstation für Brauereiwesen in Prag aufforderte; aber erst nachdem dieser Plan verwirklicht worden war, hatte die genannte Reform Fortgang in Böhmen, nämlich durch die Bestrebungen Direktor Kuklas. In dem Berichte, welchen er in der „Österreich. Brauer- und Hopfenztg.“ 1891 über die Thätigkeit der Station gab, teilt er mit, dafs unter den Brauereien, welche reingezüchtete Hefe von der Station beziehen, 20 seien, die ausschliefslich dieselbe in ihren Betrieben verwenden. Einige dieser Brauereien sind ausländische, von der Mehrzahl derselben aber mufs ich annehmen, dafs sie in Böhmen gelegen sind. Das Sonderbare bei der Sache ist, dafs alle die böhmischen Brauereien, welche mein System anwenden, kleine Fabriken sind. Der Reinzucht-Apparat ist nirgends eingeführt worden, und soweit ich habe erfahren können, haben keine der grofsen Brauereien überhaupt die Reinzucht in ihren Betrieben eingeführt. Die Verhältnisse in Böhmen sind also in dieser Hinsicht von den in allen anderen Ländern stattgefundenen verschieden. Es würde uns zu weit weg von unserem Hauptgegenstand führen, wenn wir versuchen wollten, den Ursachen dieser eigentümlichen Verhältnisse nachzuspüren.

Ehe ich diesen Abschnitt schliefse, dürfte es von einigem Interesse sein, auch auf Nord-Amerika einen Blick zu werfen. Hier hat das Reinzucht-System in den letzten paar Jahren den gröfsten Fortgang erfahren. Aus umstehendem Verzeichnis geht hervor, dafs die gröfsten und berühmtesten Brauereien dasselbe aufgenommen haben. Dr. Wahl und Dr. Henius teilen in ihrer Zeitschrift mit, dafs die Reinzucht jetzt mit durchgreifendem Erfolg in über 50 nordamerikanischen Brauereien eingeführt ist.

Alle Verhältnisse sind in diesem Weltteile durchgehends gröfser als in Europa. Von den im vorstehenden Verzeichnisse genannten Brauereien produziert z. B. Pabst in Milwaukee jährlich ca. 750000 barrels (ca. 900000 hl), Jos. Schlitz in Milwaukee ca. 600000 barrels (ca. 700000 hl)

und Anheuser Busch in St. Louis ca. 542000 barrels (ca. 630000 hl). Zum Vergleich sei hier mitgeteilt, dafs die Jahresproduktion der Brauerei Alt-Carlsberg 290000 hl beträgt. Alles in allem gerechnet, sehen wir, dafs es eine riesige Industrie ist, mit der wir uns hier beschäftigen, und dafs man in ihr nicht mit Tausenden, sondern mit Millionen rechnet.

3. Die Obergärungs-Brauereien.

Nachstehende Brauereien wenden Reinzucht-Apparate in ihrem Betriebe an:

Europa.

Dänemark.

Rahbeks Allee, Kopenhagen.
Wiibroe, Helsingör.
Bie, Hobro.

Deutschland.

*Janssen Witwe, Hamburg.
*Braukommune, Liegnitz.

Frankreich.

Dazin frères, Roubaix.
P. & E. Blanquet, St. Omer.
Masse-Meurisse fils, Lille.
E. Vennin, Lille.
E. Butruille, Douai.

Holland.

Baartz & Zoon, Brouwerij d'Oranjeboom, Rotterdam.
C. van Stolk, A. zn., Brouwerij de Posthoorn, Rotterdam.

Belgien.

Caulier, 10 rue Herry, Bruxelles.
Spreux, 5 rue des Corriers, Tournai.
Boonaerts & van Breedam, Malines.
Van Tilt soeurs, brasserie la Sirène, Louvain.
Avedyck & Co., ancienne brasserie Beckx, Louvain.

Finland.

Söderström, Sörnäs, Helsingfors.

Nachdem es mir im Jahre 1884 gelungen war, die Reinzucht in einigen dänischen und deutschen Untergärungs-Brauereien einzuführen, forderte ich Herrn Direktor Alfred Jörgensen auf, ähnliche Versuche in dänischen Obergärungs-Brauereien anzustellen. Es zeigte sich nun, dafs die Auswahl zwischen den schwach vergärenden und den schnell klärenden Hefenrassen zu treffen war. Bereits 1885 gelang es Direktor Jörgensen durch Zusammenarbeiten mit Herrn Brauereidirektor Joh. Wulff, die Reinzucht in der Brauerei Wiibroe in Helsingör einzuführen. Später faſste das neue System in der Kopenhagener Brauerei Rahbeks Allee festen Fufs. Dieses geschah im Jahre 1891, da der Herr Konsul W. Haurowitz die Direktion dieser und der übrigen der Gesellschaft „De Forenede Bryggerier“ („Die Vereinigten Brauereien“) in Kopenhagen zugehörigen Fabriken übernahm. Mit Hilfe von 2 Gärungscylindern wird nicht allein die genannte Brauerei mit Reinzuchthefe versorgt, sondern auch die anderen Obergärungs-Brauereien dieser Gesellschaft erhalten von hier ihre Reinhefe. Gleichzeitig hatte A. Jörgensen

auch in der den Herren Baartz & Zoon gehörigen Brauerei D'Oranjeboom in Rotterdam eine reingezüchtete Oberhefe eingeführt. Der technische Direktor dieser Brauerei, Herr Grimmer, gab 1890 eine diesbezügliche Mitteilung heraus, aus der hervorging, dafs man mit dem neuen System gute Resultate erzielt hatte. In der „Österreich. Brauer- und Hopfen-Zeitung" 1892, Nr. 15, teilt er mit, dafs diese berühmte Brauerei nun die Reinzucht ihrem Betriebe mit Hilfe von 3 Apparaten systematisch einverleibt habe. Arminius Bau hat auch mein System mit Erfolg in holländischen Obergärungs-Brauereien eingeführt. A. Jörgensen's gärungsphysiologisches Laboratorium hat in den letzten Jahren ebenfalls eine grofse Anzahl ausländischer Obergärungs-Brauereien mit reingezüchteten, planmäfsig ausgewählten Hefenrassen versehen.

Es ist hierdurch die Erfahrung festgestellt worden, dafs ebenso wie es verschiedene Kultur-Unterhefenarten und -rassen gibt, auch verschiedene Kultur-Oberhefenarten und -rassen existieren, von denen mehrere vielfach unter sich verschieden sind in der Art und Weise, auf welche sie arbeiten. Zur Befriedigung der an die Beschaffenheit des Bieres gestellten mannigfachen Anforderungen ist es hier mindestens ebenso notwendig wie in der Untergärung eine planmäfsige Auswahl vorzunehmen.

Infolge der durchgreifenden Verschiedenheiten der Arten und Rassen wird dieselbe Behandlung nicht für alle passen. Die im I. Heft meiner „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie" im Betreff der Unterhefe gegebenen diesbezüglichen Aufschlüsse haben auch hier Geltung; eine allgemeine Regel läfst sich nicht aufstellen.

In der Brauerei Ringnes & Co. in Christiania führte Dr. Olsen eine reingezüchtete Oberhefe ein.

Früh fand dieser Fortschritt den Weg nach Australien. In der Zeitschrift „The Australian Brewer's Journal" (Melbourne, December 20, 1888, und January 20, 1889) teilen Mac Cartie und De Bavay mit, dafs das Reinzuchtsystem in mehreren australischen Obergärungs-Brauereien gute Resultate gegeben habe, und zwar nicht allein für die leichteren Biersorten (running ales), sondern auch für die stärkeren (stock beers). Sie bemerken, dafs keine Schwierigkeit der Erreichung einer passenden Nachgärung entgegengetreten sei, und dafs in Melbourne im wesentlichen ähnliche Biere wie in England fabriziert werden. Dieses gewinnt namentlich dadurch ein besonderes Interesse, dafs man in dem letztgenannten Lande zu der Meinung sich hingeneigt hat, dafs eine aus einer einzigen Art bestehende reingezüchtete Hefe nicht fähig sein würde, die erwünschte Nachgärung (condition) zu geben. Die in Australien ausgeführten Versuche wurden teils mit einer Art, welche die Hauptmasse einer in einer Brauerei in Burton on Trent in England verwendeten Oberhefe bildet, angestellt, teils mit aus australischen Brauereien stammenden Arten.

Erstere war in Alfred Jörgensen's, letztere in De Bavay's Laboratorium hergestellt.

In den nordfranzösischen Obergärungs-Brauereien ist die Reinzucht jetzt von Dr. Kokosinski, Direktor der Brauerei-Station in Lille, erfolgreich eingeführt worden. Er teilt in seiner Abhandlung „Application industrielle de la méthode Hansen à la fermentation haute" (Station scientifique de brasserie. Comptes rendus. Gand. 1890, p. 13) mit, dafs er seine diesbezüglichen Versuche im Jahre 1888 in einer Brauerei in Lille begann, und dafs mein System zwei Jahre nachher in 15 Obergärungs-Brauereien in Nord-Frankreich eingeführt war.

Als ein Beitrag zum Aufschlusse über die in diesem Lande gewonnenen Resultate hat Herr Prof. Grönlund (Neu-Carlsberg) mir gütigst mitgeteilt, dafs die Herren Dazin frères, Brasserie de Beaurepaire in Roubaix ihm unterm 16. November 1891 folgendermafsen schrieben: „Seit 1888 verwende ich in der von mir geleiteten Brauerei reingezüchtete Oberhefe, und habe ich nach mehreren mehr oder weniger glücklichen Versuchen eine für unser Etablissement passende Rasse gefunden; das Bier hat dadurch in hohem Grade gewonnen".

Im Jahre 1889 stellte Dr. J. Vuylsteke, Professor an der Universität zu Löwen, ähnliche Versuche in einigen belgischen Brauereien an, Versuche, welche ebenfalls besonders günstig ausfielen. Ungefähr zu derselben Zeit hatte Dr. Van Laer, Professor an der Brauerei-Station in Gent, gleichfalls in dieser Richtung zu arbeiten begonnen. Er gründete 1891 „La Société des Ferments purs" und hat hierdurch dem neuen System eine weite Verbreitung in den Obergärungs-Brauereien Belgiens, Hollands und Nord-Frankreichs verschafft. Die Hefenfabrikation dieser Gesellschaft geschieht in den beiden obengenannten Brauereien Caulier in Brüssel und Spreux in Tournai. Es wird hier hauptsächlich mit zwei Rassen, einer stark und einer schwach vergärenden, gearbeitet. Wenn die absolut reine Hefe die Vermehrungs-Apparate verläfst, um in die beiden genannten Brauereien zu gehen, wird sie zu sterilisierter, in geschlossenen Gärbottichen befindlicher Würze gesetzt. Die Räume, in welchen diese Bottiche aufgestellt sind, sind — ebenso wie der Raum, in welchem die Hefe zum Versand verpackt wird —, mit steriler Luft versehen. Sowohl hierüber, als bezüglich der Thätigkeit der Gesellschaft überhaupt, finden sich eine Reihe Artikel in „La Gazette du Brasseur". Auf dem belgischen Brauertage in Gent im Juli 1892 teilte Herr Spreux mit, dafs die Gesellschaft im Laufe des letztverflossenen Monats an 75 belgische Brauereien reingezüchtete Hefe geliefert, und dafs sie 60 feste Abonnenten in Belgien, Holland und Frankreich habe, welchen jede Woche oder alle vierzehn Tage die nötige Hefe zugesandt werde.

In Belgien ist also die Fabrikation der reingezüchteten Hefe und der Handel mit derselben an zwei Brauereien geknüpft worden, während in den anderen Ländern die zymotechnischen Laboratorien sich darauf verlegt haben. Die Berliner Station unterscheidet sich jedoch dadurch von den anderen Laboratorien, dafs sie sich selbst eine Brauerei erbaut und in dieser eine Abteilung für die Fabrikation reingezüchteter Hefe eingerichtet hat, hauptsächlich in derselben Weise wie bei der belgischen „Société des Ferments purs".

Wir haben so gesehen, dafs das Reinzucht-System auch in den Obergärungs-Brauereien eine weite Verbreitung gewonnen hat. Auch auf diesem Gebiete haben die angesehensten Autoritäten es als einen grofsen Fortschritt bezeichnet. Um so auffallender ist es, dafs es noch keinen Eingang in England gefunden, das Land, in welchem die Obergärung von alters her vorherrschte, und in welchem die gröfsten Brauereien der Welt sich finden.

Als ich im Jahre 1889 in London meinen Vortrag „On my system of pure yeast culture and its application in top fermentation breweries" (siehe „Transactions of the Laboratory Club") hielt, hatte diese Sache zwar auch in England ein lebhaftes Interesse erregt, aber man mochte lieber darüber diskutieren als Versuche anstellen. Gordon Salamon hatte in seinen „Cantor Lectures" eine Übersicht meiner Untersuchungen gegeben und den englischen Technikern empfohlen, Proben nach dem von mir angegebenen Verfahren zu machen; allein seine Aufforderung fand nur wenig Anklang. Soweit ich weifs, hatten damals nur H. T. Brown und Morris derartige Versuche unternommen, nämlich in der Brauerei Worthington in Burton on Trent. Diese Versuche gaben freilich kein entscheidendes Resultat, aber die beiden genannten Chemiker waren doch der Ansicht, dafs die neue Reform sich am Ende auch in das englische Brauwesen den Weg bahnen würde, wie es bereits anderwärts geschehen war. Die meisten englischen Zymotechniker hatten damals sicher die Ansicht, dafs die Hefenreinzucht in der Fabrikation der leichteren Biersorten (running beers, running ales), aber nicht bei der Bereitung der schwereren (stock beers), einer Nachgärung bedürftigenden, verwendet werden könne. Von dieser Nachgärung war man der Ansicht, dafs sie darauf beruht, dafs das Maltodextrin und gewisse Dextrine, welche während der Hauptgärung nicht angegriffen werden können, während der Lagerung in Maltose umgebildet und darauf vergoren würden. Zur Ermöglichung dieser Nachbildung müfsten ferner, wie man annahm, gewisse wilde Unterhefenarten zugegen sein. Experimentelle Beweise für die Richtigkeit dieser Lehre wurden keine gegeben, wohl aber häufig genug ausführliche Diskussionen darüber in verschiedenen Zeitschriften.

Wie man sich erinnern wird, hatte der verstorbene Besitzer der Brauerei Alt-Carlsberg, Kapitän J. C. Jacobsen, eine ähnliche Auffassung bezüglich der untergärigen Biere, indem er annahm, dafs die wilden Hefenarten, die ich ja gerade ausschliefsen wollte, notwendig seien zur Erregung der Nachgärung. Er meinte, für diese Ansicht eine Stütze zu finden in einigen Aussprüchen in den Werken Reess's und Pasteur's, welche allerdings auch auf diese Weise verstanden werden können. Dafs diese Auffassung unrichtig war, bewies ich durch direkte Versuche.

In meinem obenerwähnten Vortrage in London wies ich auf diese Versuche hin. Die im Vorhergehenden beschriebenen, von Brauereien in Australien erzielten günstigen Resultate, standen ebenfalls im Gegensatze zu den in England aufgestellten Einwänden; beachtenswert ist es hier eben, dafs in den australischen Brauereien im Wesentlichen nach englischen Methoden gearbeitet wird. Da eine Neigung vorhanden zu sein schien, mit einer Mischung mehrerer Hefenarten Versuche anzustellen, beschrieb ich, wie diese ausgeführt werden können. Auch für dieses Verfahren ist natürlich Reinzucht und planmäfsiges Auswählen der einzelnen Spezies nötig, wenn man Sicherheit erlangen will. Da sie indefs den Brauereien grofse Schwierigkeiten verursachen wird, riet ich von ihrer diesfallsigen Anwendung ab, empfahl aber, die Versuche mit einzelnen Hefenrassen nach den von mir ausgearbeiteten Methoden fortzuführen.

Es liegen für die englischen Obergärungsbrauereien dieselben Gründe zur Aufnahme des neuen Systems vor, wie für die übrigen Zweige der Gärungsindustrie. Die Gärungen in den englischen Brauereien sind ebenso wie anderwärts der Gefahr ausgesetzt, von Bakterien und wilden Hefenpilzen ergriffen zu werden, welche Krankheiten des Bieres hervorrufen und dadurch grofse Störungen und herbe Geldverluste verursachen können. In der englischen Brauereihefe finden sich aufserdem für gewöhnlich nicht eine, sondern mehrere Kulturarten; es ist gar keine Sicherheit vorhanden, dafs die günstigste Art im Übergewicht vorhanden sei, ja es ist nicht einmal sicher, dafs sie überhaupt zugegen sei. Alles ist hier Zufall; der Brauer weifs in Wirklichkeit gar Nichts von der Hefe, welche er seinen Gärbottichen zusetzt.

Viele der alten Brauereien in England, welche ich Gelegenheit hatte zu besehen, hatten schlecht eingerichtete Gärräume, und die Platzverhältnisse gestatteten keine diesbezügliche Verbesserung. Die Gärräume waren dem Eindringen von Staub in hohem Grade ausgesetzt; ein jeder Luftstrom führte eine Infektion mit sich. Unter solchen Umständen ist es eben besonders angezeigt, grofse Massen reingezüchteter Hefe von der günstigen Rasse durch den Betrieb

gehen zu lassen. Hierdurch werden sowohl Bakterien als wilde Hefenarten in wirksamster Weise bekämpft. Wenn gleich man die Reinzucht nicht vollständig einführen kann oder will, so hat man es doch in seiner Gewalt, die gewünschte Hefenart im Übergewicht zu erhalten.

Nach meinem Besuche in England begann man in einigen dortigen Brauereien, Versuche anzustellen und neue Mitstreiter traten öffentlich für mein System ein, darunter namentlich Hagen-Schow und Dr. Sykes. Seit ein paar Jahren haben mehrere Brauereien in den verschiedenen Gegenden Englands regelmässig Sendungen von reingezüchteter Oberhefenarten von A. Jörgensen's Laboratorium in Kopenhagen bezogen. Hieraus schliefse ich, dafs dieselben zufriedenstellende Resultate gegeben haben müssen, da man sonst wohl kaum sein Geld fortwährend darauf verwenden würde. — Von Herrn Frank Wilson, Direktor der Brauerei in Castle Street, Long Acre in London, habe ich vor Kurzem die Mitteilung empfangen, dafs es ihm und seinem Sohne gelungen sei, eine reingezüchtete Hefenrasse einzuführen, welche guten Erfolg gegeben habe. Schliefslich kann ich noch mitteilen, dafs im jüngst verflossenen Sommer eine Gesellschaft mit dem Namen „The British Pure Yeast Company" in Burton on Trent errichtet wurde. Der technische Leiter derselben ist derselbe wie der Direktor der oben erwähnten Gesellschaft in Brüssel, nämlich Prof. Dr. Van Laer. Der Betrieb wird in ähnlicher Weise wie in den beschriebenen belgischen Reinzucht-Anstalten geleitet werden, und der Zweck ist, die Brauereien Grofsbritanniens mit reingezüchteter Hefe zu versehen. In den Brauereizeitschriften finden sich Berichte, welche dahin gehen, dafs die von Van Laer isolierte Hefenrasse in einigen der bedeutendsten Obergärungsbrauereien geprüft wurde, und es wird hervorgehoben, dafs sie die gewünschte Nachgärung und Bier von vorzüglicher Beschaffenheit gegeben habe. Der neue Fortschritt scheint sonach, nun auch in Kurzem im grofsen konservativen Inselreich, in dem das alte Obergärungsverfahren sich Jahrhunderte lang erhalten, festen Fufs fassen zu wollen.

4. Die Spiritus- und Prefshefenfabriken.

Da man bekanntlich in der nämlichen Fabrik sowohl Spiritus als Prefshefe produziert und ebenfalls in der nämlichen Fabrik bald auf das eine, bald auf das andere dieser beiden Produkte das Hauptgewicht legt, so habe ich keine Unterscheidung zwischen Brennereien und Prefshefenfabriken gemacht. Folgende Fabriken arbeiten mit Reinzucht-Apparat:

Europa.

Dänemark.

De danske Spritfabriker, Fredericia.

Deutschland.

Preſshefe-Fabrik des Vereins der Spiritus-Fabrikanten in Deutschland, Berlin.

Frankreich.

Vezia, Kiderlin & Co., Bordeaux.

Rufsland.

*Haase, Pensa.

Amerika.

P. Varando & Co., Buenos Ayres.

Asien.

Ynchausti & Co., Manila.
Parry & Co., Madras.

Erst in den letzten Jahren hat man in diesen Fabrikationen das neue System aufgenommen. In der Hefen- und Spritfabrik Handbjerg in Jütland hat man laut gütiger Mitteilung des Besitzers, Herrn Ebbensgaard, seit längerer Zeit mit Erfolg eine von Direktor Alfred Jörgensens Laboratorium in Kopenhagen bezogene reingezüchtete Hefenrasse benutzt. Die Gesellschaft „Die dänischen Spritfabriken“ sind jedoch die ersten Fabriken, welche den Reinzucht-Apparat eingeführt und überhaupt die Reinzucht in systematischer Weise angewendet haben. Der Direktor dieser Gesellschaft, Herr Olesen, und Herr Inspektor Bischoff, welchen Herren ich diese Aufschlüsse verdanke, haben ausgesprochen, dafs sie die Reinzucht auch für die Hefenfabrikation als einen entschiedenen Fortschritt betrachten. Die in Fredericia bestehende Abteilung der Fabriken stellt seit lange vermittelst des Apparates die für den täglichen Betrieb nötige Reinzuchthefe dar und hat nicht nur die anderen Fabriken der Gesellschaft, sondern auch die meisten übrigen Hefenfabriken Dänemarks sowie eine Fabrik im Auslande mit dieser Stellhefe versehen. Der genannten dänischen Gesellschaft gebührt also die Ehre, zuerst diese Reform auf dem Gebiete der Preſshefenfabrikation verwirklicht zu haben.

In der „Zeitschrift für Spiritusindustrie“ 1892 Nr. 6 und „Ergänzungsheft“ S. 24 weist Prof. Dr. Delbrück auf den im Brauereiwesen erzielten durchgreifenden Erfolg als Ausgangspunkt hin. Er hebt dann hervor, dafs Dr. P. Lindner im Laboratorium der Berliner Station nachgewiesen hat, dafs in den deutschen Brennereien mit einer unreinen Hefe gearbeitet wird, welche aus einer grofsen Anzahl hinsichtlich ihres Vermehrungs- und Gärungsvermögens unter einander verschiedener Rassen besteht, von denen einige dem Betrieb vorzüglich angemessen, andere dagegen unbrauchbar sind. Die Ausbeute wird indes nicht allein dadurch geschmälert, dafs man also ungünstige Hefenrassen verwendet, sondern auch noch dadurch, dafs der Zeug von Bakterien angesteckt ist. Infolgedessen hat

der Verein der deutschen Spiritus-Fabrikanten auf Delbrücks Vorschlag sich die Aufgabe gestellt, die Anwendung reingezüchteter, aus einer günstigen Rasse bestehender Hefe in den Brennereien einzuführen und zu diesem Behufe eine Reinzucht-Anstalt in Berlin einzurichten.

Nach einigen vergeblichen Versuchen hat diese Anstalt günstige Resultate in den deutschen Brennereien erzielt. Dr. G. Heinzelmann berichtet hierüber in der genannten Zeitschrift, No. 25: „Es ist dem Laboratorium der Station jetzt gelungen, eine Hefenrasse zu isolieren, welche den von der Praxis an die Hefe gestellten Anforderungen genügen dürfte. Mit dieser Hefenrasse stellte ich Versuche im Grofsen in der Brennerei des Herrn Otto in Schlagenthin bei Arnswalde N. M. an. Vor der Verwendung der Reinzuchthefe wurde der Vormaischbottich sowie die Rohrleitungen mit Kalk gut desinfiziert, jedoch die Arbeitsweise beibehalten. Es wurde mit Mais gearbeitet".

Die Vorteile, welche sich aus der Einführung der reinen Hefe für diese Fabrik ergaben, bestanden wesentlich darin, dafs die Säurebildung geringer als sonst wurde. Die Gärung wurde eine bessere, was sich darin zu erkennen gab, dafs man mit dem nämlichen Material eine um 1 Vol. % höhere Alkoholausbeute als bei Verwendung der früheren, unreinen Hefe erhielt. Endlich erschien der mit der reingezüchteten Hefe dargestellte Spiritus einen angenehmeren Geschmack und Geruch zu haben, als man es gewohnt war.

Die späteren Erfahrungen lauten ebenso günstig (siehe Nr. 28 derselben Zeitschrift):

Eine Dampf-Kornbranntweinbrennerei, in der mit einer Mischung von Mais, Roggen, Hafer und Grünmalz gearbeitet wurde, hatte bisher bei Anwendung der gewöhnlichen, unreinen Hefe eine gute Ausbeute erreicht; als aber der Versuch mit der reingezüchteten Hefenrasse vorgenommen wurde, stellte sich trotzdem heraus, dafs durch letztere die Ausbeute um 0,2—0,25 % vom Maischraum gesteigert wurde. Bei reiner Roggenmaischung war das Resultat noch günstiger.

Eine grofse Maisbrennerei teilt mit, dafs sie bei Anwendung der reingezüchteten Hefe eine Ausbeute von 11,66 % gegen 11,4 % vorher erhielt. Von einer Melassebrennerei und einer Prefshefenfabrik liegen gleichfalls sehr günstige Resultate vor. In einer anderen Prefshefenfabrik dagegen haben die Ergebnisse mit der Reinhefe nicht befriedigt. Es ist dies bisher der einzige ungünstige Fall.

Auch in den Kartoffelbrennereien scheint dieselbe reingezüchtete Hefe ein gutes Resultat zu geben. Zu bemerken ist, dafs in allen den erwähnten Fällen nur von einer Rasse die Rede ist; dieselbe wird in der Station als Nr. II bezeichnet und wird hernach ununterbrochen daselbst gezüchtet werden, um die Fabriken, welche Mitglieder des Vereins

sind, mit Stellhefe versehen zu können. In diesen wird die Hefe stetig in den gewöhnlichen Bottichen gezüchtet. Die Reinzucht-Anstalt der Station bedient sich dagegen selbstverständlich des Reinzucht-Apparates.

Der Fortgang der neuen Reform in der Spiritus- und Preſshefenfabrikation ist demnach als gesichert anzusehen.

Es würde die Grenzen der gegenwärtigen Arbeit bei weitem überschreiten, wenn ich die irrigen Ansichten über die Hefenfrage, welche sich in diesen Fabrikationen eingewurzelt haben, zu berichtigen versuchen wollte. Nur einen Punkt muſs ich, ehe ich diesen Abschnitt schlieſse, hervorheben, da derselbe für die Bewegung, welche nun begonnen hat, eine besondere Bedeutung besitzt. Es ist der nämliche Irrtum, gegen den ich auch schon, als ich meine Reformbestrebungen im Brauwesen begann, kämpfen muſste. Man verlangt nämlich von der Reinzucht mehr, als sie ihrem Wesen nach zu leisten vermag. Wenn man eine gewöhnliche, mehr oder minder unreine Hefe hat, die in der betreffenden Fabrik sich gut bewährt hat, so wird man mit Hilfe einer daraus hergestellten Reinkultur in der Regel nicht die Ausbeute steigern können. Verwirft man nun aus diesem Grunde die reingezüchtete Hefe, so begeht man einen Fehler. Die Bedeutung der reingezüchteten Hefe liegt in der Sicherheit, welche sie ergibt. Vorausgesetzt, daſs die Hefenrasse richtig ausgewählt ist, gibt sie das günstigste Resultat und fährt damit fort, solange die Züchtungsverhältnisse einigermaſsen gleich bleiben. Bei Anwendung der unreinen, gewöhnlichen Hefe hat man dagegen keine Sicherheit; nach kurzer Zeit kann ihre Zusammensetzung dergestalt verändert worden sein, daſs sie ein nichts weniger als zufriedenstellendes Resultat gibt; kurz, bei unreiner Hefe arbeitet man immer auf's Geratewohl und weiſs in Wirklichkeit gar nicht, was man der Flüssigkeit in den Gärbottichen zugibt. Bei dem gegenwärtigen Stande der Verhältnisse ist in der Gärung die Quelle der meisten und gefährlichsten Schwankungen im Betriebe zu suchen. Durch Einführung einer reingezüchteten, planmäſsig ausgewählten Hefenrasse gewinnt man in diesem Punkte Sicherheit und einen rationellen Betrieb. Hierin liegt der Fortschritt. In den Fabriken existieren indeſs noch mehrere andere Quellen von Schwankungen und Gefahren, und daran kann die reine Hefe nicht die Schuld tragen. Die reine Hefe kann, wie ich schon früher stark habe hervorheben müssen, nicht Alles thun. Die Anforderungen an die gute Beschaffenheit der Rohprodukte sowie an ein vernünftiges und genaues Verfahren bleiben die gleichen wie vorher.

Schlieſslich will ich noch an dieser Stelle beifügen, daſs Schiöttz-Christensen in Kopenhagen eine reingezüchtete Hefe dargestellt hat, welche in der Schwarzbrotbäckerei anstatt des Sauerteigs verwendet wird.

5. Die Trauben- und Fruchtweingärung.

Durch seine Untersuchungen über die Weingärung kam Pasteur zu der Anschauung, dafs man den Traubenmost ohne Gefahr der durch die auf der Oberfläche der Beeren vorhandenen Hefenpilze hervorgerufenen spontanen Gärung überlassen könne. In seinen Studien über das Bier, S. 4, spricht er diese Ansicht wieder aus. Man fuhr in Wirklichkeit auch ruhig fort, den Zufall für die Gärung sorgen zu lassen; niemand dachte vor der Hand darauf, ein rationelleres Verfahren zu erfinden. Zu jener Zeit ging man ebenfalls davon aus, dafs Saccharomyces ellipsoideus oder, wie Pasteur diese Hefenart nannte, „la levûre ordinaire du vin", eine einzige bestimmte Art sei. Im Jahre 1883 zeigte ich, dafs mindestens zwei Arten sich unter diesem Namen verbergen. Aus den Untersuchungen, welche ich fünf Jahre später über das Verhältnis der Alkoholhefenpilze zu den Zuckerarten mitteilte, ging ferner hervor, dafs in der Erde unter den Weinreben und anderwärts sich Hefenzellen vorfinden, welche den Zellen, welche man gewöhnlich mit dem systematischen Namen Sacch. ellipsoideus bezeichnet, ähnlich sehen, sich aber dadurch von diesem unterscheiden, dafs ihnen die Sporen fehlen. Mehrere von diesen Nicht-Saccharomyceten erregen in Dextroselösungen eine lebhafte Gärung, und es wird daher wohl nicht unwahrscheinlich sein, dafs sie oft an der Weingärung teilnehmen. Sie sind gewifs auch als zu Sacch. ellipsoideus gehörend beschrieben worden. Aus diesem Allen erhellt, dafs der Weinhefenpilz nicht eine, sondern mehrere Arten sind.

Nachdem mein Reinzucht-System in der Brauereiwelt Anerkennung gewonnen hatte, wurde hiedurch die Aufmerksamkeit auf die Weingärung gelenkt. Bis dahin hatte man, wie schon oben bemerkt, den kostbaren Traubenmost allerwärts der zufälligen Gärung überlassen.

Der Erste, welcher jetzt diese Frage einer wissenschaftlichen Behandlung unterzog, war der Franzose Louis Marx (Moniteur scientifique, Paris 1888). Vermittelst der von mir angegebenen Methoden zur Darstellung von Reinkulturen und zur Analyse der Hefenarten wies er nach, dafs in einer jeden Weinhefe mehrere Arten sich vorfinden, welche oft unter dem Mikroskope ähnlich aussehen, aber dennoch in anderen Beziehungen verschieden sind und ebenfalls im Traubenmoste eine verschiedene Wirksamkeit entfalten. Ebenso wie bei den von mir untersuchten Saccharomyces-Arten zeigte es sich auch hier, dafs der Entwickelungsgang der Sporen gute Charaktere abgibt.

Von besonderer praktischer Bedeutung sind die von Marx mit mehreren der von ihm isolierten Arten angestellten Versuche. Er säete jede Art für sich in den nämlichen Traubenmost aus, und es zeigte sich jetzt, dafs sie Wein von verschiedenem Bouquet und verschiedenem Geschmacke

hervorbringen konnten. Daher sprach er die Anschauung aus, dafs man durch Anwendung einer Reinkultur einer bestimmten ausgewählten Hefenart imstande sein werde, einen besseren Wein als sonst zu erzielen, auch wenn der Most weniger gut sei. Es sind dies also wesentlich dieselben Resultate, wie diejenigen, welche meine Versuche mit Carlsberger Unterhefe Nr. 1 und Nr. 2 in den Jahren 1883 und 1884 im Gebiete des Brauwesens ergeben hatten. Marx gab ein Verfahren zur Züchtung grofser Mengen der Reinhefe an, durch welches man sich in bequemer Weise eine günstige Gärung des Weintraubenmostes sichern konnte.

Ungefähr zur selben Zeit veröffentlichte ein anderer Franzose, Rommier, in den „Comptes rendus" der Pariser Akademie einige Mitteilungen über Weingärung. Er arbeitete jedoch nicht mit Reinkulturen, und insoweit er die Hefe nicht nahm sowie sie in dem betreffenden Wein vorhanden war, verwendete er ähnliche Methoden wie die von Pasteur im Jahre 1876 zur Reinigung der Brauereihefe vorgeschlagenen. Rommier greift die Sache in solcher Weise an, als ob die Forschung in der Zwischenzeit stillgestanden hätte, und scheint die unterdessen aufserhalb Frankreichs gemachten Fortschritte gar nicht zu kennen.

Seine Ausführungen gehen dahin, dafs das Bouquet des Weines durch die Hefe allein bedingt sei, und dafs Traubenmost aus Gegenden, welche nur gemeine Weinsorten produzieren, einen Wein mit den gleichen Hauptcharakteren wie die irgend eines typischen feinen Weines geben werde, wenn man nur dem feinen Weine entstammende Hefe dazu verwende. Es sind dieselben Beobachtungen wie die von Marx mitgeteilten, aber sie werden hier so dargestellt, als ob ihnen unbedingte Giltigkeit zukäme. Auf die chemische Zusammensetzung des Mostes wird kein Gewicht gelegt; die Hefe soll nun alles ausrichten. Mehrere Weingärungs-Techniker stellten ähnliche lose Behauptungen wie Rommier auf.

Ich hatte, wie oben berührt, in den Jahren 1883—1884 zum ersten Male durch exakte Experimente nachgewiesen, dafs es verschiedene Saccharomyces-Arten gibt und dafs dieselben Gärungsprodukte von verschiedener Beschaffenheit geben. Indem ich in den Mitteilungen über meine Brauerei-Studien in dringender Weise darauf hinwies, wie wichtig es ist, die Gärung mit einer einzigen ausgewählten Art oder Rasse zu führen, betonte ich doch zugleich, dafs der Charakter und die ganze Beschaffenheit des Bieres durch mehrere andere Faktoren aufser der Hefe bedingt ist; letztere bildet allerdings einen sehr wichtigen Faktor, aber nur einen. Man wird so z. B. nicht Bier vom Pilsener Typus bekommen, wenn man in eine nach dem Münchener Verfahren arbeitende Brauerei Hefe aus Pilsen einführt. Dieses weifs ein jeder kundige Brauer, und auf dem Gebiete des Brauwesens liefs es sich daher kaum denken, dafs solche übertriebene Behauptungen wie die von Rommier und seinen Anhängern

aufgestellten vorgebracht werden könnten. Widerlegungen sind denn auch nicht ausgeblieben, und in diesen sind nun einige der Gegner wiederum zu weit nach der entgegengesetzten Seite hin gegangen. Es ist ein grofser Mangel bei den meisten der Autoren, welche in den letzten Jahren über die Weingärung geschrieben haben, dafs sie sich nur in oberflächlicher Weise mit den über die Biergärung vorliegenden Untersuchungen bekannt gemacht haben; denn diese bilden doch die Grundlage, und auf diesem Gebiete sind die gröfsten Fortschritte gemacht worden.

Im J. 1890 sind zwei andere Franzosen, Martinand und Rietsch, mit Untersuchungen aufgetreten, welche sich den oben erwähnten Marx'schen genau anschliefsen; Reinkulturen stellten sie auf die nämliche Weise wie der letztgenannte Forscher dar. Sie haben in Marseille eine Anstalt zur Versorgung der Praktiker mit reingezüchteter Weinhefe von ausgewählten Rassen errichtet. 1891 hat Jacquemin im Verein mit Marx eine ähnliche Anstalt in Le Locle eröffnet.

Das Verdienst, den ersten Schritt gethan zu haben um die Weingärung in Deutschland in ein rationelleres Geleise zu bringen, gebührt Prof. Dr. Müller-Thurgau. Er war damals Direktor der pflanzenphysiologischen Versuchsstation in Geisenheim am Rhein. Ein Bericht über seine Arbeiten auf diesem Gebiete findet sich in der in Mainz erscheinenden Zeitschrift „Weinbau und Weinhandel". Im J. 1889 hatten einige Weinbauer in dieser Gegend auf seinen Vorschlag hin eine Portion der gesunden, unbeschädigten, mithin auch schimmelfreien Trauben ausgesondert und den mit ihnen hergestellten Most in gewöhnlicher Weise in Gärung gebracht. Diesen gärenden Most verwendeten sie dann als Anstellhefe für den übrigen Most. Es bezeichnete dies schon einen Fortschritt. Im Herbste 1890 wurden die ersten Versuche mit einer reingezüchteten Hefe angestellt, und zwar mit einer Art, welche Müller-Thurgau aus dem „Steinberger" Wein ausgeschieden hatte. Dieselbe gab eine gute Gärung, und Herr Schlegel, der Bericht darüber erstattet, fordert darum dazu auf, mehrere Proben damit in der Praxis anzustellen. Betreffend das Bouquet des Weines hat Müller-Thurgau in scharfem Gegensatze zu den französischen Forschern die Auffassung, dafs derselbe gar nicht durch die Hefenart oder Rasse, mit welcher die Gärung angestellt wird, sondern lediglich durch die Traube selbst bedingt sei. In einem Schreiben, welches er im Dezember 1891 die Güte hatte, mir zu senden, spricht er sich folgendermafsen aus: „Angeregt durch Ihre Schriften habe ich in Deutschland zuerst ausgedehnte Untersuchungen bezüglich Reingärung der Weine angestellt und darauf gestützt in der Praxis in grofsem Mafsstabe Weingärungen mit einer zu diesem Zwecke ausgesuchten, rein kultivierten Hefenrasse veranlafst. Obgleich wir aus technischen Gründen vorläufig verhindert waren, dabei eigent-

liche Reingärungen durchzuführen, sind die Erfolge doch ganz bedeutende". Es wurden Reinkulturen dem gewöhnlichen Traubenmost zugesetzt.

Im J. 1892 gab Prof. Dr. Wortmann, Müller-Thurgau's Nachfolger in Geisenheim, eine Abhandlung über die Vergärung des Traubenmostes mit reingezüchteten Hefenarten heraus; sie erschien in der obengenannten Zeitschrift Nr. 23. Er betont hierin stark, dafs die bislang angewendete Methode der Vergärung des Weintraubenmostes eine ganz rohe sei, indem es dem Zufall überlassen bleibe, ob eine gute Gärung eintreten werde oder nicht. Er weist danach auf die verschiedenen Gefahren hin, welchen der Wein so ausgesetzt wird, und empfiehlt dringend die Einführung solcher reingezüchteter Hefenrassen, von welchen im voraus bekannt ist, dafs sie ein günstiges Resultat geben. Nur in dieser Weise könne man, wie dies in der Bierbrauerei geschehen ist, sich ein gutes Produkt sichern. „Wir erhalten", sagt er ferner, „wenn wir den gleichen Most mit verschiedenen Hefenrassen vergären lassen, auch verschiedene Produkte, die um so ungleicher ausfallen werden, je verschiedener die angewendeten Hefenrassen in ihren Eigenschaften und Lebensgewohnheiten waren". Dennoch vertritt er die Ansicht, dafs der Charakter des Weines nie ausschliefslich von der betreffenden Hefenart bedingt sei, sondern ganz bestimmt und in erster Linie von den Eigenschaften des Mostes abhänge. Wortmann ist also für den Wein zum gleichen Resultat gelangt, welches ich durch meine Untersuchungen auf dem Gebiete des Brauwesens erzielte. Die Hefenarten machen ihren Einfluſs hinsichtlich des Geschmackes, Bouquets und der ganzen Beschaffenheit des Weines geltend; allein man geht zu weit, wenn man etwa glaubt, dafs aus einem ordinären Moste ein feiner Wein erzielt werden könne, wenn man nur die Gärung von der Hefe des feinen Weines ausführen lasse. Im Gegensatze zu den französischen Forschern betont er, dafs der hauptsächlichste Vorteil, welchen man durch die Anwendung reingezüchteter Hefe erzielen könne, in der dadurch erlangten gröfseren Sicherheit bestehe. Wortmanns Abhandlung ist mit grofser Klarheit geschrieben und gibt die beste Übersicht über den Standpunkt, den die Entwickelung derzeit erreicht hat. Am Schlusse teilt er mit, dafs in der ihm unterstellten Versuchsstation bereits eine Reihe von Heferassen aus den verschiedensten Gegenden in Reinkultur gezüchtet sind, und dafs eine Liste der erhaltenen Formen, nebst Angabe ihrer speziellen Eigenschaften veröffentlicht werden wird, um es dem Praktiker zu ermöglichen, unter diesen verschiedenen Weinhefen seine Auswahl zu treffen und damit Versuche zu machen.

Auch italienische Chemiker und Physiologen haben in der jüngsten Zeit der Reinzuchtfrage ihre Aufmerksamkeit zugewendet. Untersuchungen nach dieser Richtung hin liegen namentlich von Forti und Pichi vor.

Wir werden demnächst sehen, wie die Verhältnisse sich in der Obstweinfabrikation gestalten. Im J. 1890 gab der Franzose Kayser eine Mitteilung über einige von ihm mit Apfelmost gemachten Versuche. Er verwendete hiezu sieben Hefenarten, teils jede für sich allein, teils auch in Mischungen, und richtete seine Versuche derart ein, dafs sie den praktischen Verhältnissen möglichst gleichkamen. Die Hefenarten waren aus verschiedenen französischen Fruchtweinen (cidres) ausgeschieden. Es zeigte sich, dafs einige von ihnen ein gutes Produkt gaben, andere dagegen nicht, und dafs man durch Anwendung einer nur aus einer einzigen Art bestehenden Anstellhefe einen guten Fruchtwein erhalten konnte.

Der Erste jedoch, welcher auf diesem Gebiete Versuche in der Praxis selbst vorgenommen hat, ist Dr. Nathan in Rottweil. Den bezüglichen Bericht hat er in der Zeitschrift „Der Obstbau", Stuttgart 1891 und 1892, veröffentlicht. Nathan ist nicht Theoretiker allein, sondern zugleich ein angesehener Praktiker mit viel Erfahrung in diesem Gebiete. Die Versuche wurden in sehr grofsem Mafsstabe ausgeführt und haben deshalb um so gröfsere Bedeutung. Sie gaben das Resultat, dafs die Güte und der ganze Charakter des Fruchtweines in höherem Grade von der Hefenart, welche eine Hauptrolle während der Gärung spielt, als vom Moste bestimmt wird. „Wenn ich", schreibt er in seiner Abhandlung von 1892, „die 40 Gefäfse untersuchte, welche ich mit ein und demselben Most entweder aus Beeren oder aus Äpfeln oder Birnen gefüllt und danach mit je einer Hefenart oder Hefenrasse infiziert hatte, so unterschied sich das Gärprodukt zuweilen in einer solch auffallenden Weise, dafs kein Mensch daran denken würde, dafs man es hier mit ein und demselben Material zu thun hatte. — Während einzelne Weinheferassen z. B. dem Apfelmost einen ungemein weinähnlichen Geschmack wie Geruch zu verleihen vermochten, zeigten andere wieder, dafs sie den Apfelmost sehr wenig verändern konnten. — Manche gaben dem Most einen sehr unangenehmen Beigeschmack". Nathan fand weiter, dafs seine Hefenarten sich nicht nur dadurch von einander unterscheiden, dafs sie Fruchtweine von verschiedener Beschaffenheit geben, sondern dafs sie zugleich, wenn die Analyse nach dem von mir angegebenen Verfahren vorgenommen wird, gute biologische Charaktere aufweisen. Den zu seinen Versuchen verwendeten Most zum grofsen Teil keimfrei zu machen, gelang ihm, indem er denselben durch eine Zentrifuge von Berghs Konstruktion passieren liefs.

Das Resultat war kurz ein so günstiges, dafs der Herr Geheime Kommerzienrat Duttenhofer, Besitzer der Anstalt für Fruchtweinbereitung, deren technischer Leiter Dr. Nathan ist, den letzteren aufgefordert hat, das Hefenreinzuchtsystem in dem ganzen Betrieb

einzuführen. Zur Förderung der Fruchtweinbereitung in Württemberg hat Herr Duttenhofer zugleich Sorge getragen, dafs den Praktikern gute Hefenrassen in reingezüchtetem Zustande von seiner Anstalt billig geliefert werden können. „Die Hefereinkultur", schreibt Nathan, „ist ganz dazu angethan, eine gewaltige Umwälzung auf dem Gebiete der Fruchtweinbereitung zu verursachen und dieselbe zu einem blühenden Industriezweige zu erheben".

In Dänemark ist in der jüngsten Zeit auch ein Anfang gemacht worden, indem Aug. Andersens Fruchtweinfabrik in Slagelse mit bestem Erfolg mit einer aus Alfred Jörgensens Laboratorium bezogenen reingezüchteten Hefenrasse arbeitet.

6. Rückblick und Schlufsbemerkungen.

Im Laufe der nach meinen ersten praktischen Versuchen in der Brauerei Alt-Carlsberg verflossenen neun Jahre hat mein Hefenreinzucht-System, wie aus dem Obenstehenden hervorgeht, eine weite Verbreitung gewonnen. Dasselbe ist jetzt in allen Zweigen der grofsen Industrie, in der eine Züchtung von Alkoholhefenpilzen vorgenommen wird, aufgenommen worden, und es hat in allen Ländern Anhänger gewonnen; mehrere meiner vorherigen Gegner sind als kräftige Verteidiger desselben aufgetreten. Welch ein Unterschied zwischen jetzt und damals, als der Anfang gemacht wurde!

Prof. Aubry in München, einer der Zymotechniker, welche zuerst für meine Reformbestrebungen eintrat, bemerkt hierüber in einer Mitteilung von 1891: „Es war allerdings keine leichte Aufgabe, damals (im Jahre 1884) eine Sache zu vertreten, über welche angesehene Vertreter der Zymotechnik nicht nur die Achsel zuckten, sondern offen und energisch Krieg führten und den Brauer dadurch von dieser Neuerung abtrünnig machten, ja, noch mehr, es wurden Mifserfolge, welche bei besserer Sachkenntnis leicht als unwesentlich und aus anderen Ursachen natürlich erklärt werden konnten, gegen die Reinhefe in's Feld geführt. Nur das Bewufstsein, einen Erfolg für die Brauerei in gewisse Aussicht stellen zu können, liefs unter solchen Umständen den Schreiber dieses unerschüttert an der guten Sache weiter arbeiten, und es ist, nicht ohne schwere Mühe gelungen, endlich durchzudringen".

Während Aubry auf den Kampf hinweist, den die Reform zu bestehen hatte, so verweilt Alfred Jörgensen in der dritten Ausgabe seines Buches „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie" dagegen bei dem Beifalle, den meine Arbeiten nach und nach in der Literatur fanden. Meine Sache hat in der That bis auf die jüngste Zeit sehr verschiedene Wechselfälle des Schicksals erfahren, ist jedoch, obschon oft im starken Wellengang, immer vorwärts geschritten. Im Anbeginn wurde ihr starker

Widerstand entgegen gestellt, aber hervorragende Fachgenossen halfen mir, denselben zu überwinden. Bei einer anderen Gelegenheit habe ich meinen aufrichtigen Dank hierfür ausgesprochen, den ich auch hier noch wiederhole.

Nach dem Fortgange, den das Hefenreinzuchtsystem gegenwärtig gemacht hat, wird es schwerlich ein zu dreister Gedanke genannt werden können, wenn ich glaube, man werde binnen einem Menschenalter soweit damit gediehen sein, dafs man die Schwierigkeiten kaum werde verstehen können, welche zur Zeit, als die Bahn gebrochen ward, meinen Bestrebungen entgegentraten. Das Ganze wird dann zunächst als etwas sich von selbst Ergebendes dastehen, wie das seit Jahrhunderten mit der Züchtung der höheren Pflanzen im Garten- und Ackerbau der Fall gewesen ist. In Wirklichkeit ist ja das zu Grund liegende Prinzip das gleiche, nur die Methoden, die Technik sind andere. Die junge Wissenschaft von den Mikroorganismen ist eine Entwickelungsprofs der älteren biologischen Wissenschaft von den höheren Organismen. Manchem der Probleme der Mikrobiologie, welches erst die Neuzeit in Angriff genommen hat, wurde in der Lehre von den höheren Pflanzen schon längst eine ausführliche Behandlung zuteil.

Unter den Fabrikationen, in welchen die alkoholische Gärung verwendet wird, bietet die Bereitung untergäriger Biere die einfachsten Verhältnisse in betreff der Gärung; es ist hier leichter als anderwärts, diese zu beherrschen. Eine natürliche Folge hiervon ist es, dafs die Reinzucht planmäfsig ausgewählter Arten und Rassen auch zuerst in dieser Fabrikation eingeführt werden mufste, was wiederum zur Einführung von Apparaten zur Reinigung der Luft und zur Abkühlung und Lüftung der siedendheifsen, sterilen Würze beim Ausschlufs der unreinen Luft Veranlassung gab. In den Untergärungsbrauereien wurde überdies mit der Hefenreinzucht nicht nur der erste Anfang gemacht, sondern dieselbe hat hier auch eine gröfsere Vervollkommnung als auf irgend einem anderen Gebiete erreicht. Die hier gemachten Erfahrungen wurden demnach naturgemäfs den Versuchen zu Grunde gelegt, welche in dieser Richtung in den anderen Zweigen der Gärungsindustrie angestellt wurden.

Die Fabrikation untergäriger Biere ist mit der Bereitung der obergärigen so nahe verwandt, dafs der Schritt, den das neue System zu thun hatte um von der einen zur anderen dieser Fabrikationen zu gelangen, schnell gethan war. Die kleinen Abänderungen, um welche es sich hier handelte, namentlich betreffs der Konstruktion des Vermehrungsapparates, wurden von A. Jörgensen, Kokosinski, Jensen und Van Laer ausgeführt.

Die Spiritus- und Prefshefenfabrikation sowie die Bereitung von Trauben- und Fruchtweinen sind diejenigen Zweige der Gärungsindustrie,

welche ihrer Natur gemäfs zuletzt in die neue Bahn gelangen mufsten. Die Arbeitsweise ist hier von der in den Untergärungs-Brauereien angewendeten ganz verschieden; auch sind die Maische und der Most gemeinlich in höherem Grade infiziert als die Würze in den Brauereien, selbst wenn diese die offenen Kühlschiffe verwenden. Dessenungeachtet zeigt die Erfahrung auch in jenen Fabrikationen, dafs eine kräftige Reinkultur einer guten Hefenrasse in den weitaus meisten Fällen die vorhandenen Konkurrenten bewältigen und mithin unter diesen Umständen ebenfalls eine genügend reine Gärung von der gewünschten Beschaffenheit geben wird. Wie oben angeführt, haben Marx in der Traubenweingärung und Nathan in der Fruchtweingärung auch Versuche angestellt, den Most zu sterilisieren.

Die Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze haben auch auf andere Industriezweige eingewirkt, wenngleich nur in indirekter Weise. In dem von Prof. Dr. Weigmann bei der Eröffnung der milchwirtschaftlichen Versuchsstation in Kiel gehaltenen Vortrage („Der Zweck und die Aufgaben der bakteriologischen Abteilung der milchwirtschaftlichen Versuchsstation in Kiel." Beilage zur Milch-Zeitung 1889 Nr. 40) verweist er auf die praktischen Resultate, welche das Hefenreinzucht-System dem Brauwesen geleistet hat, und er bezeichnet es als eine Aufgabe der Milchwirtschaft, für die Punkte, wo eine Gärung stattfindet, ein ähnliches Ziel anzustreben. Es handelt sich hier namentlich um die Fragen betreffs der Säuerung des Rahmes und betreffs der der Butter und der Milch anhaftenden Fehler, sowie bezüglich des Reifens des Käses. Weigmann hat wichtige Beiträge zur Lösung dieser Fragen gegeben; von seinem Laboratorium sind viele deutsche Meiereien bereits mit Reinkulturen einer zur Säuerung des Rahmes erfolgreich angewendeten Bakterienart versehen worden.

In Dänemark hat Prof. Storch bedeutsame Untersuchungen nach denselben Richtungen hin veröffentlicht, und die Herren Laboratoriumsdirektoren Quist und Zoffmann haben mehrere skandinavische Meiereien mit ähnlichen Reinkulturen wie die Weigmannschen versehen. In Österreich hat namentlich Prof. Dr. Adametz diese Sache in die Hand genommen. An dieser Stelle sind gleichfalls die in theoretischer Hinsicht wichtigen Vorarbeiten von Duclaux und Hueppe hervorzuheben.

Auch auf dem Gebiete der Tabakfabrikation beginnt man nun, dasselbe Prinzip in Anwendung zu bringen. Nach vollendetem Einernten der Tabakblätter werden dieselben in dicken Schichten zum langsamen Trocknen in das Lager gelegt. Hier tritt eine von Bakterien hervorgerufene Gärung ein, die den Geschmack und Geruch des Tabaks verändert. Dr. Suchsland in Halle hat im Jahre 1892 nachgewiesen,

dafs es möglich ist, dem ordinären deutschen Tabak ein feineres Aroma und einen milderen Geschmack beizubringen, wenn man Sorge trägt, dafs die genannte Gärung von gewissen, in dem Havanna-Tabak und in anderen feinen Sorten vorhandenen Bakterienarten ausgeführt wird. Suchsland verwendet hierzu eine Mischung von mehreren Arten. Auch zum Erzielen einiger in der Milchwirtschaft erwünschter Gärungen scheint ein Zusammenwirken mehrerer Arten notwendig zu sein. In allen den Fällen, in welchen man wie im Brauwesen die Gärung mit Hilfe einer einzigen Art durchführen kann, ist dieses natürlich als das Einfachste und Sicherste vorzuziehen.

Es unterliegt keinem Zweifel, dafs die übrigen mehr oder weniger auf einer Bakteriengärung beruhenden Gewerbszweige den obengenannten in der Nutzbarmachung des neuen Fortschrittes folgen werden. Sonderbar ist es, dafs in dieser Hinsicht noch kein Schritt von seiten der Essigfabrikation gethan worden ist.

Es ist nunmehr einem jeden Zymotechniker, welcher sich mit den Resultaten der neuzeitigen Forschung vertraut gemacht hat, klar, dafs das Ziel allerwärts, wo Gärungsorganismen benutzt werden, das gleiche sein mufs, nämlich von dem altherkömmlichen Verfahren, in dem der blinde Zufall herrschte, wegzukommen. Auf diesem ganzen Gebiete hat jetzt eine neue Aera begonnen.

August 1892.

Chem 7858.95
Untersuchungen aus der Praxis der G
Cabot Science
003418384
3 2044 091 948 612